

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg im Breisgau
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer)

**Untersuchungen zur Aufnahme von
radiojod-markiertem 3,5,3¹-L-Trijodthyronin
durch menschliche Erythrozyten in vitro
und ihre Bedeutung für die Diagnostik
von Schilddrüsenerkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Gerhard Meuret

aus Tuttlingen

1963

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg im Breisgau
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer)

**Untersuchungen zur Aufnahme von
radiojod-markiertem 3,5,3¹-L-Trijodthyronin
durch menschliche Erythrozyten in vitro
und ihre Bedeutung für die Diagnostik
von Schilddrüsenerkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Gerhard Meuret

aus Tuttlingen

1963

Dekan: Professor Dr. H. WIMHÖFER

Referent: Professor Dr. W. KEIDERLING



Meinen Eltern zum Dank



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. EINLEITUNG	1
I. Schilddrüsenfunktionsdiagnostik im Laboratorium	2
II. Schilddrüsenhormone im Blut	4
III. Der Schilddrüsenfunktionstest nach HAMOLSKY et al.	10
B. MATERIAL und METHODIK	12
I. Material	12
1. Zur Bestimmung der Trijodthyronin- Erythrozyten-Aufnahme (*T ₃ -E.A.) .	12
2. Zu den elektrophoretischen Unter- suchungen	13
3. Geräte zur Radioaktivitätsmessung	13
4. Verwendete Präparate	14
II. Methodik	15
1. Bestimmung der *T ₃ -E.A.	15
2. Veränderung des Hämatokrit- wertes (Hk)	16

3. Veränderung der Plasmazusammensetzung in vitro	17
a) durch Zugabe von stabilem Trijodthyronin (T_3) bzw. Thyroxin (T_4)	17
b) durch Zugabe von Cholesterin	17
c) durch Zugabe von Gallensäure	17
d) durch Plasmaverdünnung	17
4. Messung des Radioaktivitätsverlustes aus dem Plasma durch die Inkubation mit Erythrozyten ...	18
5. Elektrophoretische Untersuchungen	18
6. Statistische Auswertung	19
C. ERGEBNISSE und DISKUSSION	20
I. Untersuchungen zur Methodik	20
1. Ergebnisse	20
a) Einfluß von Heparin auf die $*T_3$ -E.A.	20
b) Einfluß der Blutlagerung auf die $*T_3$ -E.A.	21
c) Einfluß der Plasmakonzentration von Radiotrijodthyronin auf die $*T_3$ -E.A.	22
d) Einfluß der Inkubationstemperatur auf die $*T_3$ -E.A. ...	23
e) Einfluß der Inkubationsweise auf die $*T_3$ -E.A.	23

f) Einfluß von Lagerungs-Zeit und -Temperatur auf das den Erythrozyten angelagerte $*T_3$	24
g) Einfluß der Meßmethodik	24
h) Methodische Fehlerbreite	25
2. Diskussion	26
II. Untersuchungen zum Mechanismus	
der $*T_3$ -E.A.	31
1. Ergebnisse	31
a) Analyse des Waschvorganges	31
b) Analyse der T_3 -Anlagerung an die Erythrozyten	33
c) Einfluß der spezifischen Aktivität	34
d) Trijodthyroninanlagerung an Plasmafraktionen	34
e) Messung der Thyroxin-Bin- dungskapazität von TBG	35
f) Latente TBG-Bindungskapazi- tät für Thyroxin	36
g) Vergleich der TBG-Affinität zu Thyroxin und Trijod- thyronin	37
2. Diskussion	38
III. Patientenuntersuchungen	
1. Ergebnisse	51
a) Individuelle Schwankungs- breite der $*T_3$ -E.A.	51

b) Abhängigkeit der *T ₃ -E.A. vom Hämatokrit	51
c) Patientenuntersuchungen	52
α) Patienten mit übereinstimmender klinischer- und Radiojodtest-Diagnose	52
β) Patienten nach Radiojodtherapie oder Strumektomie .	56
γ) Patienten mit Strumitis	60
δ) Extrathyreoidale Beeinflussung der *T ₃ -E.A.	61
Einfluß der Hypophyse auf die *T ₃ -E.A.	61
*T ₃ -E.A. bei Lebererkrankungen	62
*T ₃ -E.A. in der Schwangerschaft	63
Einfluß von Plasmaeiweiß-Veränderungen auf die *T ₃ -E.A.	64
Einfluß der Plasmalipide auf die *T ₃ -E.A.	65

2. Diskussion	66
-------------------------	----

D. ZUSAMMENFASSUNG und SCHLUSSFOLGERUNGEN . .	77
---	----

E. TABELLENANHANG	82
-----------------------------	----

F. LITERATURVERZEICHNIS	89
-----------------------------------	----

A. E I N L E I T U N G

Zur Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen im Laboratorium stehen heute zahlreiche Möglichkeiten zur Verfügung, die eine differenzierte Analyse erlauben. Nachteilig bei klinischen Routineuntersuchungen ist jedoch, daß diese Methoden schwierig durchzuführen sind und meist viel Zeit beanspruchen. HAMOLSKY et al. berichteten 1957 über ein neues Verfahren, bei dem die Erythrozytenaufnahme von radiojodmarkiertem Trijodthyronin bestimmt wurde. Da sich dieser Test durch eine einfache Methodik bei guter Übereinstimmung der Ergebnisse mit anderen Untersuchungsverfahren auszeichnete, wurde er mit Interesse aufgenommen. - Schon bald nach der Veröffentlichung wurden die Befunde von zahlreichen Autoren im wesentlichen bestätigt und ergänzt. - Weitgehend ungeklärt blieb aber die Frage nach den das Testergebnis bestimmenden Faktoren; auch konnte bisher noch keine einheitliche Methodik angegeben werden.

Um das Verfahren zur Schilddrüsendiagnostik einsetzen zu können, erschien es uns daher notwendig, zuerst eine praktische Methodik mit geringer Schwankungsbreite auszuarbeiten. Die richtige Beurteilung der Testaussage konnte erst nach Aufklärung des Testmechanismus erfolgen. Darüberhinaus war es wichtig zu wissen, ob der Test auch im endemischen Jodmangelgebiet verläßliche Ergebnisse liefert. - Die vorliegende Arbeit sollte zur Klärung dieser drei Punkte beitragen. Sie schließt sich an Untersuchungen zu diesen Fragen an, die 1962 von G.FINK an der Isotopen-Abteilung der Medizinischen Klinik Freiburg durchgeführt wurden.

I. Schilddrüsenfunktionsdiagnostik

im Laboratorium

(Literaturübersicht bei E.KLEIN 1960)

Wenn man die zahlreichen, gut entwickelten Verfahren, die wir heute zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion zur Verfügung haben, überblickt, so könnte der Eindruck entstehen, daß eine Störung im Schilddrüsenhormonhaushalt durch Laborbefunde allein ausreichend erfaßt werden kann. Die klinische Erfahrung aber zeigt, daß dies oft nicht möglich ist. Erst zusammen mit der klinischen Symptomatik entsteht ein geschlossenes Bild der vorliegenden Erkrankung, aus dem die bestmögliche Therapie abgeleitet werden kann.

Die Schilddrüsenfunktionsteste beruhen auf zwei verschiedenen Prinzipien. - Früher stand nur eine Gruppe von Testen zur Verfügung, mit denen biologische Wirkungen der Schilddrüsenhormone vor allem auf den Kreislauf und den Energiebedarf des Organismus erfaßt wurden. Diese Untersuchungen sind jedoch recht unspezifisch und werden leicht durch extrathyreoidale Einflüsse verändert. - Die Bestimmung des Grundumsatzes aber hat sich relativ gut bewährt und hat immer noch - vor allem im Rahmen anderer Untersuchungen - eine Bedeutung.

Die direkte Beobachtung der Schilddrüsenfunktion war möglich, nachdem man erkannt hatte, daß die Schilddrüsenhormone Jod enthalten und daß die Schilddrüse das Zentralorgan des Jodumsatzes ist.

Seit 1923 stehen - in der Folgezeit vielfach modifizierte - Verfahren zur Mikroanalyse des Jods zur Verfügung, mit deren Hilfe es möglich wurde, das an Plasmaproteine gebundene Jod quantitativ zu bestimmen. Der als PBI¹²⁷ (Protein Bound Iodine)

bezeichnete Wert umfaßt alle organischen Jodverbindungen, nicht nur die stoffwechselaktiven Schilddrüsenhormone. Letztere lassen sich jedoch isoliert durch n-Butanol extrahieren und werden so der Messung zugänglich gemacht (BEI) (MAN et al. 1951). - Eine sichere Diagnostik auf Grund der PBI- und BEI-Werte ist jedoch nicht möglich und kann bei bestimmten Krankheitsbildern zu Fehlschlüssen führen.

Die Verwendung des radioaktiven Jodisotops J^{131} eröffnete für die Erforschung und Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen viele neue Möglichkeiten, denn es gestattete den Einblick in die dynamischen Vorgänge des Jodhaushalts. - HERTZ et al. und HAMILTON & SOLEY veröffentlichten 1938 die ersten klinischen Erfahrungen. Inzwischen liegt eine fast unübersehbare Fülle von Befunden vor, die ein gutes Bild des normalen und gestörten Schilddrüsenhormonhaushalts vermitteln.

Von den zahlreichen Verfahren mit J^{131} , die Schilddrüsenfunktion zu analysieren, wird in der Klinik vor allem der Z w e i p h a s e n - R a d i o j o d t e s t verwendet. Hierbei muß zwar J^{131} inkorporiert werden, doch konnte die zu applizierende Radioaktivität durch eine gut entwickelte Meßtechnik so weit reduziert werden, daß die Strahlenbelastung für Erwachsene ungefährlich ist. Bei Kindern jedoch ist mit der Testanwendung Zurückhaltung geboten; Schwangere dürfen nicht getestet werden. - Durch Radioaktivitätsmessungen über der Drüse und im Blut wird während 48 h nach der oralen Gabe der Weg des Jods verfolgt (in der Regel sind 3 Messungen, nach 2, 24, 48 h ausreichend). Die in den ersten 24 h beobachtete Verschiebung der Radioaktivität aus dem Blut in die Drüse läßt auf die Jodavidität und Jodspeicherungsfähigkeit des Organs schließen (Jodidphase). Später wird durch die Sekretion markierter Hormone ins Blut ein Teil des J^{131} wieder zurückverlagert (Hormonphase).

Für spezielle Fragestellungen kann dieser Grundtest erweitert werden: Der Vergleich des Ergebnisses mit dem nach Prämedikation von Thyreoidea stimulierendem Hormon (TSH), Schilddrüsenhormonen oder Thyreostatika gewonnenen, erlaubt Rückschlüsse auf die Steuerung der Drüse durch den Hypophysen-Vorderlappen.

In manchen Fällen jedoch liefert auch der Radiojodtest unbefriedigende Ergebnisse. Das betrifft vor allem Zustände nach Schilddrüsenresektion, außerdem Schilddrüsenmalignome und Jodfehlverwertungen. Die Prämedikation von Schilddrüsenhormonen, Jod, jodhaltigen Substanzen (z.B. Röntgenkontrastmitteln) und Thyreostatika verändert das Testergebnis und läßt eine einwandfreie Beurteilung nicht zu. - Somit muß auch der Radiojodtest bei komplizierten Krankheitsbildern mit anderen Methoden kombiniert werden. Dafür eignet sich in erster Linie die PBI- bzw. BEI-Bestimmung und die chromatographische Fraktionierung der J^{131} -Aktivität.

Auch nach dem Aufbieten aller diagnostischen Möglichkeiten bleibt eine Gruppe von Krankheitsbildern, die nicht sicher beurteilt werden kann. Die Schwierigkeiten liegen vor allem in der Einordnung unklarer Grenzfälle und - was klinisch von noch größerem Interesse ist - der Abschätzung des Therapieerfolgs, sei es nach Operation oder nach Behandlung mit Radiojod und Thyreostatika.

II. Schilddrüsenhormone im Blut

Da sowohl der von HAMOLSKY et al. (1957) entwickelte Test, als auch die eigenen Untersuchungen Befunde von Studien über den Transport von Schilddrüsenhormonen im Blut zur Grundlage haben, soll

darüber im folgenden kurz referiert werden.

Der Sekretion von Schilddrüsenhormonen ins Blut geht eine Proteolyse des im Follikelkolloid vorhandenen Thyreoglobulins voraus (DE ROBERTIS 1949). - Es scheint sich um einen besonderen Stoffwechselvorgang im Sinne des "aktiven Transports" zu handeln, denn physiologischerweise passieren nur die jodierten Thyronine - Thyroxin (T_4) und Trijodthyronin (T_3) - die Follikelzellen, nicht dagegen die in größerer Menge vorkommenden Jodtyrosine - Mono- und Dijodtyrosin) (PITT-RIVERS 1957). Die tägliche Sekretionsrate wird nach BERTSON & YALOW (1954) mit 77 - 125 $\mu\text{g } T_4$ angegeben; bei Hyperthyreosen ist sie erhöht (450 - 920 $\mu\text{g } T_4$).

Im Blut stellt L-Thyroxin (3,5,3',5'-Tetrajodthyronin) den größten Teil der jodhaltigen Verbindungen. Daneben konnte 3,5,3'-L-Trijodthyronin isoliert werden (GROSS & PITT-RIVERS 1952a), dessen Anteil stark schwankt; er wird mit 0 - 14 % angegeben (KLEIN 1960). Ob normalerweise auch Dijodtyrosin ins Blut gelangt, ist fraglich. - Die Werte des PBI und besonders des BEI geben also in erster Linie Aufschluß über das vorhandene Thyroxin. - Bei Schilddrüsen gesunden fand KLEIN (1960) PBI-Werte von 3 - 10 $\mu\text{g}\%$. Die PBI-Werte sind nicht altersabhängig; sie steigen bei hyperthyreoten Patienten, in der Schwangerschaft (HEINEMANN 1948) und bei Lebererkrankungen (KYDD 1951) an. Unter der Norm liegende Werte wurden außer bei hypothyreoten, auch bei nephrosekranken Patienten beschrieben (REICANT & RIGGS 1952). Bei dem zuletzt genannten Krankheitsbild wird der Hormonverlust durch die Nieren als Ursache angegeben.

Der Hormontransport im Blut wurde mittels Dialyse, chemischer Fraktionierung der Plasmaproteine, Ultrazentrifuge und Elektrophorese untersucht.

TREVORROW (1939) zeigte als erster, daß dem Humanplasma zugegebenes Thyroxin nicht dialysierbar

ist und mit den Plasmaproteinen ausgefällt werden kann. Thyroxin kann aber durch n-Butanol aus dem Plasma extrahiert werden. - Aus dieser Beobachtung geht hervor, daß Thyroxin relativ fest an Plasmaproteine gebunden ist, so daß es durch Dialyse und Trichloressigsäure nicht gelöst werden kann.

Durch die Cohnsche Fraktionierung der Plasmaproteine konnte gezeigt werden, daß die Fraktion VI-3, die im Elektropherogramm in den α -Globulinen liegt, einen hohen T_4 -Gehalt hat (SCHMID 1953). - Durch Zugabe von markiertem Thyroxin zu elektrophoretisch gewonnenen Plasmafraktionen wiesen FREINKEL et al. (1955) nach, daß die Cohnschen Unterfraktionen IV-4, IV-6, IV-9 die höchste Thyroxinaffinität besitzen.

Bei den papierelektrophoretischen Untersuchungen wanderte ein Großteil der im Blut zirkulierenden Thyreoidea-Hormone zwischen den α_1 - und α_2 -Globulinen (GORDON et al. 1952; LARSON et al. 1952; HORST & RÖSLER 1953). Daraus ergab sich die Definition für das noch nicht rein dargestellte Thyroxin bindende Globulin (TBG): Unter TBG wird die Proteinfraction verstanden, die sich bei freier - und bei der Papier-Elektrophorese in Puffern von $p_H = 8,6$ und einer Ionenstärke, die $\mu = 0,1$ nicht überschreitet, zwischen den α_1 - und α_2 -Globulinfraktionen bewegt. Sie wird auch als "Inter- α -Fraktion" bezeichnet.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen Schlüsse auf die Natur dieser Fraktion zu (Zusammenfassungen bei ROBBINS & RALL 1957; PITT-RIVERS & TATA 1959; INGBAR 1960a). Es handelt sich um ein α -Globulin, das in geringer Menge im Serum vorhanden ist. Die Sedimentationskonstante $S_{20,w} = 3,3$ entspricht einem Molekulargewicht von etwa 5000, der isoelektrische Punkt liegt unter $p_H = 4,5$, die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit bei diesem p_H -Wert ist die der M_2 -Proteine. TBG ähnelt

damit den von SCHULTZE et al.(1955) beschriebenen α_1 -Glykoproteiden.

Bei Verwendung von Stärke-Gel als Trägermedium (RICH & BEARN 1958) und auch im sog. "Tris"-Puffer (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan + Maleinsäure) mit einer Ionenstärke von $\mu=0,2$ wird T_4 auch in der Präalbuminzone angelagert (INGBAR 1958). Andere Untersuchungen von INGBAR (1960b) lassen darauf schließen, daß es sich um eine zweite Thyroxin transportierende Protein-Fraktion des menschlichen Serums handelt, die er als T h y r o x i n b i n d e n d e s P r ä - A l b u m i n (TBPA) bezeichnet.

Die TBG-Affinität zu Schilddrüsenhormonen ist ausgesprochen spezifisch. Sie ist am höchsten zu L-Thyroxin, L-Trijodthyronin gegenüber ist sie etwa $1/3$ so groß (DEISS et al.1953; ROBBINS & RALL 1955). TBPA lagert bei der Papierelektrophorese nur L-Thyroxin, nicht aber L-Trijodthyronin an. Es besitzt nur $1/7$ der TBG-Affinität zu Thyroxin (INGBAR 1960).

Werden dem Serum steigende Mengen von T_4 oder T_3 zugegeben, so lagern sich diese Hormone außer an TBG zunächst auch an Albumin an und verteilen sich schließlich über alle Proteinfractionen. Albumin bindet Thyroxin und Trijodthyronin etwa gleich stark (TATA & SHELLABARGER 1959).

Die Bindungskapazität von TBG für Thyroxin wurde zuerst von ROBBINS (1956) bestimmt. Sie ist begrenzt und bei bestimmten Krankheitsbildern und der Schwangerschaft charakteristisch verändert. Im Plasma von Normalpersonen lagerte TBG durchschnittlich $20 \mu g\%$ T_4 an. Bei hyperthyreoten Patienten war der TBG-Spiegel unverändert, bei hypothyreoten dagegen erhöht (ROBBINS & RALL 1957). Eine TBG-Vermehrung wurde auch während der Schwangerschaft (DOWLING et al.1956a; ROBBINS & NELSON 1958), bei der infektiösen Hepatitis (VANNOTTI & BÉRAUD 1959) und nach Oestrogenapplikation beob-

achtet (DOWLING et al. 1956b). - Der Eiweißverlust bei Nephrosen führt zu einer TBG-Reduktion (RECANI 1956; ROBBINS, RALL & PETERMANN 1957).

Die TBPA-Kapazität im Normalserum liegt bei 120 μ g% Thyroxin. Während der Schwangerschaft bleibt sie unverändert; sie ist aber bei der Hyperthyreose und manchen extrathyreoidalen Erkrankungen (febrilen-, postoperativen Zuständen, bei metastasierenden Malignomen, Gehirneinfällen und Myocardinfarkten und bei der Leberzirrhose) oft reduziert (INGBAR & FREINKEL 1960b).

Thyroxin kann durch andere Schilddrüsenhormone aus seiner Bindung an TBG reversibel verdrängt werden (ROBBINS & RALL 1955). Dieser Vorgang zeigt, daß im Plasma ein Gleichgewicht zwischen protein-gebundenem und freiem Thyroxin besteht. Da reines TBG nicht zur Verfügung stand, war bisher das freie Thyroxin der Messung nicht zugänglich.

Aus den Größen der besprochenen Komponenten (Hormonmenge, Affinität und Bindungskapazität von TBG) läßt sich jedoch eine gewisse Vorstellung vom Verhältnis des freien zum proteingebundenen Hormon-Anteil im Plasma gewinnen. - ROBBINS & RALL (1957) versuchten die Menge des freien Thyroxin zu errechnen; der ermittelte Wert kann jedoch nur orientierend sein (INGBAR & FREINKEL 1960b). Nach Angaben der genannten Autoren soll bei Normalpersonen das freie Thyroxin 0,6 % des Gesamtthyroxin betragen.

Der Weg der Schilddrüsenhormone vom Blut ins Gewebe ist unklar. Es gibt experimentell keinen Anhalt, daß proteingebundene Hormone in die Zelle gelangen. Die heute gültige Auffassung, daß nur freie Hormone in die Zelle diffundieren, hat im wesentlichen folgende Untersuchungen zur Grundlage:

- 1) Die Messung der Abwanderungsgeschwindigkeit markierter Schilddrüsenhormone aus dem Blut. - Für Thyroxin war die Halbwertszeit des Radioaktivitätsabfalls im Blut 2 - 4 mal länger als für Trijodthyronin (STERLING et al. 1954). Hypothyreote Patienten hatten im Vergleich zu euthyreoten eine verlängerte, hyperthyreote Patienten eine verkürzte Halbwertszeit (STERLING & CHODOS 1956).
- 2) Die in vitro bestimmte Thyroxinaufnahme von Gewebstückchen (FREINKEL et al. 1957), Mitochondrien (KLEMPERER 1955; KALLEE 1959) und Erythrozyten (CRISPELL et al. 1955, 1956, 1957) war 2 - 8 mal kleiner als die Aufnahme von Trijodthyronin. Die Hormonaufnahme aus dem Plasma hyperthyreoter Patienten war gegenüber Normalpersonen gesteigert; bei hypothyreoten Patienten waren die Aufnahmewerte gesenkt (HAMOLSKY et al. 1957).
- 3) In der Schwangerschaft steigt der TBG-Spiegel an. Der Abfall des freien Thyroxin führt zu einer Stimulierung der Hypophyse (BROWN-GRANT 1960), welche durch vermehrte Sekretion von thyreotropem Hormon die Schilddrüse zur Steigerung der Hormonproduktion anregt. Der vermehrte Thyroxingehalt des Blutes (PBI-Werte wie bei Hyperthyreosen) führt jedoch nicht zu einer Steigerung des Grundumsatzes.
- 4) Bei Säugetieren hatte Trijodthyronin eine 3 - 7 mal höhere biologische Wirksamkeit als Thyroxin (GROSS & PITT-RIVERS 1952b); bei Hühnern dagegen konnte kein Unterschied zwischen den beiden Hormonen festgestellt werden (NEWCOMER 1957). TATA & SHELLABARGER (1959) führten diesen Befund auf das unterschiedliche T₄-Bindungsmuster zurück. Hühner besitzen kein TBG; die Hormone lagern sich dem Albumin mit gleicher Affinität an.

III. Der Schilddrüsenfunktionstest nach HAMOLSKY et al.

HAMOLSKY et al. (1957) versuchten, ob die ursprünglich zur Klärung theoretischer Fragen durchgeführte Messung der Hormonaufnahme von Erythrozyten zur Schilddrüsenfunktionsdiagnostik mit herangezogen werden kann. Sie arbeiteten eine für die klinische Diagnostik bestimmte Methodik aus, bei der die Erythrozytenaufnahme von J^{131} -markiertem Trijodthyronin bestimmt wurde.

Methodik: 3 ml ungerinnbar gemachtes Blut wurden mit $10 - 120 \cdot 10^{-4} \mu\text{g } J^{131}$ -markiertem T_3 versetzt und 2 Stunden in 10 ml Erlenmeyer-Kolben bei 37°C unter gleichmäßigem Schütteln inkubiert. Hierauf wurde je 1 ml Blut in Zentrifugengläser pipettiert und die Radioaktivität gemessen. - Vor der zweiten Messung wurden die Erythrozyten 5 mal mit je 10 ml isotonischer Kochsalzlösung gewaschen. - Aus beiden Messungen ergab sich die prozentuale Hormonaufnahme der gewaschenen Erythrozyten, die durch eine Proportionalitätsgleichung auf einen angenommenen Hämatokrit von 100 umgerechnet wurde.

Ergebnisse: Der erste Bericht umfaßte Untersuchungen an 305 Patienten, deren Ergebnisse in der folgenden Tabelle zusammengefaßt sind:

Diagnose	n	* T_3 -Erythrozyten-Aufnahme	M
Hypothyreose	29	5,0 % - 11,0 %	9,3 %
Euthyreose	209	10,3 % - 17,0 %	13,9 %
Hyperthyreose	67	16,4 % - 34,2 %	21,9 %

n = Anzahl der untersuchten Patienten
M = Mittelwert

Die Überlappungen der höchsten und niedrigsten Meßwerte der Normalpersonen mit denen von Schilddrüsenkranken waren gering. Nur 2,6 % der Aufnahmewerte lagen zwischen 10 - 11 % und 3,8 % zwischen 16 - 17 %. 95,5 % der bei den hyperthyreoten Patienten gemessenen Werte lagen über 17 %; bei hypothyreoten Patienten überstieg die Aufnahme nie 11 %.

I. M a t e r i a l

1. Zur Bestimmung der Trijodthyronin-Erythrozyten-Aufnahme (*T₃-E.A.)

a) Das zu den Untersuchungen verwendete Blut stammte von freiwilligen Spendern und von Patienten der Medizinischen Klinik Freiburg. Die Freiwilligen waren zwischen 20 und 40 Jahren alt; bei ihnen waren keine Zeichen einer Dysfunktion der Schilddrüse festzustellen.

Zur Entnahme benützten wir heparinisierte Flaschen und Spritzen. 10 ml Blut wurden bis zu 300 I.E. Heparin (0,06 ml "Thrombophob") zugesetzt. Bis zur Aufarbeitung wurde das Blut luftdicht verschlossen bei 4°C, nicht länger als 4 Stunden gelagert. Den Hämatokritwert (Hk) bestimmten wir mit der Kapillarmethode nach Van Allen.

b) Zur Aufarbeitung der Blutproben dienten Zentrifugengläser aus Pyrexglas mit folgenden Maßen:

Länge:	110 mm
lichte Weite:	13 mm
Wandstärke:	1 mm

Die Füllhöhe von 10,5 ml war markiert.

c) Der Inkubator bestand aus einem Wasserbad, in welchem ein in zwei Dimensionen frei beweglicher Schüttelkasten hing, der von der Exzentrerscheibe eines Elektromotors angetrieben wurde. Die Wassertemperatur wurde durch ein Kontaktthermometer geregelt.

d) Die zum Waschen der Erythrozyten verwendete isotonische Kochsalzlösung leiteten wir von dem 1,5 m über dem Arbeitsplatz stehenden Vorratsgefäß durch einen Saugheber mit Gummischlauch zu einem Spritzansatz aus Glas (Länge 12 cm, Düsenöffnung 2 mm). Mittels einer Schlauchklemme konnte die Stärke des Flüssigkeitsstrahls reguliert werden. Die Waschflüssigkeit wurde mit einer Wasserstrahlpumpe abgehebert.

2. Zu den elektrophoretischen Untersuchungen

Wir verwendeten Elektrophoresegeräte der Firma Dr. Bender & Hobein, München (Typ: Elphor-H).

Der zur Bestimmung der TBG-Bindungskapazität verwendete Tris-Maleat-Puffer mit einer Ionenstärke von $\mu = 0,1$ bei $pH = 8,6$ wurde folgendermaßen hergestellt (GOMORI 1948):

Stammlösung A: 24,2 g Tris(hydroxymethyl)aminometan

23,2 g Maleinsäure in 1 Liter

Stammlösung B: 0,2 n NaOH

Zusammensetzung: 25 ml A + 43,3 ml B ad 278 ml.

Als Trägermaterial dienten die sog. Membranfolien (39 x 315 mm) der Firma Carl Schleicher & Schüll, Dassel. Es handelt sich um Folien, die eine schaumartige Struktur besitzen und die Zelluloseazetat zur Grundlage haben. - Den Transport von Trijodthyronin im Plasma untersuchten wir mittels der Papierelektrophorese (Träger: Filterpapier, Whatman I) im Natrium-Veronal-Puffer ($pH = 8,6$; Ionenstärke $\mu = 0,1$) (Zusammensetzung siehe Documenta Geigy 1960).

3. Geräte zur Radioaktivitätsmessung

Zur Messung flüssiger Proben verwendeten wir Geräte der Firma Tracerlab,

Boston, USA. Die Meßeinheit bestand aus einem mit Blei abgeschirmten Bohrlochszintillationszähler (Kristall: $P_{20}CW$) mit vorgeschaltetem Meßverstärker ("1000 Scaler"). Bei einer Meßzeit von 3 Min. betrug die maximale Schwankungsbreite der Meßergebnisse $\pm 2\%$. Es wurde immer die Nettoimpulsrate (Meßwert minus Leerwert) verwendet.

Die Aktivitätsverteilung auf Chromatogramm und Elektrophoresestreifen bestimmten wir mit Geräten der Firma Friesseke & Hoepfner, Erlangen-Bruck. Im Radio-Papierchromatographen (FH 452) wurden die Papierstreifen kontinuierlich (120 mm/h) an zwei über und unter dem Streifen angebrachten Geiger-Müller-Endfenster-Zählrohren (Massenbelag $1,1 \text{ mg/cm}^2$) vorbeitransportiert, die durch 3 mm breite Spaltblenden abgeschirmt waren. Die durch ein Ratemeter (FH 57) integrierten Impulse wurden auf einem synchron laufenden Linienschreiber (Firma Metrawatt, Nürnberg) als sog. Radiogramm wiedergegeben.

4. Verwendete Präparate

a) Schilddrüsenhormonpräparate: Radiojodmarkiertes L-Thyroxin ($*T_4$; T_4 - J^{131}) und 3,5,3'-Triiod-L-thyronin ($*T_3$; T_3 - J^{131} ; Triomet®), gelöst in Propylenglykokoll, bezogen wir von den Abbott Laboratories, Oak Ridge, Tennessee (USA). Die spezifische Aktivität der verschiedenen Chargen schwankte zwischen 30 - 50 mc/mg. 1 ml Lösung enthielt 200 - 400 μC . - Vor Versuchsbeginn verdünnten wir Triomet® je nach spezifischer Aktivität und Konzentration mit 0,9 % NaCl auf das 100 - 200 fache, so daß 0,03 ml Lösung eine Impulsausbeute von mindestens 15 000 Impulsen pro Minute ergaben. Der T_3 -Gehalt dieser Menge überschritt nie 0,02 μg . - Die Präparate wurden höchstens bis zum 10. Tag nach der Her-

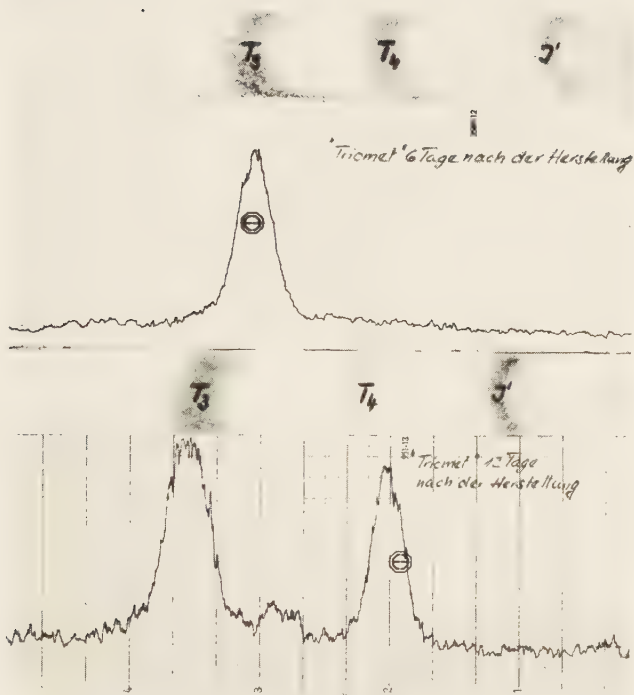


Abb. 1 Der Zerfall des J^{131} -markierten Trijodthyroninpräparates wurde durch chromatographische Auftrennung verfolgt. - Es sind zwei Papierchromatogramme mit Radiogrammen wiedergegeben: oben 6 Tage - unten 12 Tage nach der Herstellung der Präparate

stellung verwandt und jeden zweiten Tag mit der von KEIDERLING & EMRICH (1960) angegebenen Methodik chromatographisch auf Reinheit geprüft (Abb.1).

Stabiles L-Thyroxin (T_4 , T_4 -J¹²⁷) und 3,5,3'-Trijod-L-thyronin (T_3 , T_3 -J¹²⁷) als Natriumsalz bezogen wir in Form von Trockensubstanz von den Farbwerken Hoechst, Frankfurt/Main.

b) Thyreoidaea stimulierenden Hormon (TSH): Firma Schering A.G., Berlin.

c) Adrenokortikotropes Hormon (ACTH): Depot-ACTH, Hoechst, Frankfurt/Main.

d) Heparin : "Thrombophob", Nordmark-Werke, Hamburg. 1 ml entspricht 5000 I.E., $pH = 7,28$.

e) Gallensäure : Natrium cholalicum puriss., E.Merck, Darmstadt.

II. Methodik

1. Bestimmung der * T_3 -E.A.

0,03 ml des verdünnten * T_3 -Präparates wurden zusammen mit 1 ml Blut in die Zentrifugengläser abpipettiert und im Szintillationszähler gemessen (I_{gesamt}). Die durch Gummistöpsel verschlossenen Proben wurden 2 Stunden bei 37°C inkubiert, bei einer Schüttelgeschwindigkeit, die das Absetzen der Erythrozyten auf der einen Seite und Hämolyse auf der anderen vermied. Unmittelbar nach der Inkubation wurden die Erythrozyten 5 mal mit je

10 ml isotonischer Kochsalzlösung gewaschen. Hierbei wurde das Plasma möglichst weitgehend unter Vermeidung einer Hämolyse entfernt. Dies war möglich, wenn der ziemlich starke Strahl aus der Spritzdüse kurz über dem Flüssigkeitsspiegel auf die Wand des Zentrifugenglases auftraf. Die bis zur Marke aufgefüllten Gläser wurden jeweils 5 min lang bei 4000 Upm zentrifugiert und die Waschlösung abgehebert. - Für den Waschprozeß hielten wir eine Zeit von 30 - 40 min ein. - Die zweite Aktivitätsmessung erfolgte mit gewaschenen Erythrozyten ($I_{\text{Ery.}}$). Aus beiden Messungen konnte der prozentuale Anteil der zugegebenen $*T_3$ -Menge berechnet werden, der nach dem Waschen den Erythrozyten anhaftete:

$$\% *T_3\text{-E.A.} = \frac{I_{\text{Ery.}} \cdot 100 \%}{I_{\text{gesamt}}}$$

Die in der vorliegenden Arbeit aufgeführten Werte stellen Mittelwerte von 3- oder 4-fach-Bestimmungen dar. Meßwerte einzelner Proben wurden mit einem Vermerk gekennzeichnet.

2. Veränderung des Hämatokritwertes (Hk)

Frisch entnommenes, mit Heparin versetztes Blut wurde in 30 ml fassenden Zentrifugengläsern 40 min lang bei 4000 Upm abzentrifugiert, das Plasma abgehebert und die über den Erythrozyten liegende Leukozytenschicht entfernt. Die Erythrozyten waren höchstens 10 min vom Plasma getrennt und wurden mit Pipetten pipettiert, die eine weitleumige Ausflußöffnung (2 mm) besaßen. Zur Orientierung bei der Einstellung verwendeten wir die folgende Formel:

$$\frac{\text{Erythrozytenmenge (ml)} \cdot 100}{\text{Gesamtblutmenge (ml)}} = \text{Hk} - c$$

Die empirisch gefundenen Werte für c wuchsen mit dem Hämatokritwert an (für $Hk = 30$ galt $c = 2$, für $Hk = 50$ $c = 6$). Anschließend wurde der wahre Hämatokritwert mit der Kapillarmethode bestimmt.

3. Veränderung der Plasmazusammensetzung in vitro

a) durch Zugabe von stabilem Triiodthyronin (T_3) bzw. Thyroxin (T_4)

Die Hormonpräparate wurden in 0,02 n NaOH gelöst und die gewünschten Konzentrationen durch eine Verdünnungsreihe mit 0,02 n NaOH hergestellt. 1 ml Blut wurden 0,03 ml, 2,5 und 3 ml Blut 0,05 ml der Lösung zugegeben. Die in den Kurven angegebenen Hormonmengen in $\mu g\%$ bezeichnen die Plasmakonzentrationen.

b) durch Zugabe von Cholesterin

Ein Teil des dem Plasma zugegebenen Cholesterins ging nach 5-stündigem, heftigem Schütteln mit Glasperlen bei 25°C in Lösung. Mit den Proben ohne Cholesterin-Zusatz wurde in derselben Weise verfahren. Dem so vorbehandelten Plasma wurden gewaschene Erythrozyten zugefügt.

c) durch Zugabe von Gallensäure

Das Präparat lösten wir in isotonischer Kochsalzlösung und gaben 0,1 ml der Lösung pro ml Vollblut zu.

d) durch Plasmaverdünnung

Nach der Bestimmung der latenten TBG-Bindungskapazität des Plasmas senkten wir diese durch Zugabe eines NaCl-Borat-Puffers ($p_H = 7,4$).

Zusammensetzung:

50 ml 0,1 n Borsäure
5,9 ml 0,1 n NaOH
0,85 g NaCl mit Aqua dest. ad 100

Der Versuch wurde mit einem Hämatokrit von 40 durchgeführt.

4. Messung des Radioaktivitätsverlustes aus dem Plasma durch die Inkubation mit Erythrocyten

Als Ausgangsmenge verwendeten wir bis zu Hämatokritwerten von 40 2,5 ml Blut; im Hämatokritbereich zwischen 40 und 50 waren es 3 ml. Bei der ersten Aktivitätsmessung (I_{gesamt}) enthielten die Reagenzgläser lediglich 0,05 ml des verdünnten T_3 -Präparates und 0,05 ml der Lösung mit dem stabilen Hormon. Erst dann wurde das Blut zugegeben und das Gemisch inkubiert. Nach der Inkubation wurde das Plasma abgehebert und die $*T_3$ -E.A. in der unter 1. beschriebenen Weise bestimmt. Die Impulszahl von 1 ml Plasma (I_1) rechneten wir auf die Gesamtplasmamenge (I_2) um:

$$I_2 = \frac{\text{Ausgangsblutmenge (100 - Hk)} \cdot I_1}{100}$$

Das Radioaktivitätsdefizit des Plasmas war dann:

$$100 \% - \frac{I_2 \cdot 100}{I_{\text{gesamt}}}$$

5. Elektrophoretische Untersuchungen

Durch eine Verdünnungsreihe mit 0,02 n NaOH wurde das hierin gelöste stabile L-Thyroxin so verdünnt, daß 0,02 ml Verdünnung, die 1 ml Serum zugegeben wurden, einen Bereich von 5 - 220 $\mu\text{g}\%$ T_4 umfaßten. Das in Propylenglykokoll gelöste Radio-

Thyroxin verdünnten wir mit aqua bidest., daß 0,02 ml, die wir 1 ml Serum zusetzten, 10 oder 20 µg% T₄ enthielten. - Stabiles und Radio-Thyroxin wurde mit dem Serum zusammen 2 h bei 37°C inkubiert und 0,007 ml des Gemisches auf die Streifen aufgetragen. - Wir erreichten eine gute Trennung der Albumine von der α₁-Globulin-Fraktion, indem wir an die Membranfolien zuerst drei Stunden eine Spannung von 200 V anlegten, die wir in der 4. Stunde auf 400 V erhöhten. - Die Streifen wurden mit vertikal stehender Schmalseite vorsichtig bei 40°C getrocknet und noch im feuchten Zustand in zwei gleiche Hälften längsgeteilt. Die eine Hälfte gelangte, zwischen zwei Tesafilmstreifen aufgezogen, zur Messung in den Chromatogrammskanner, die andere wurde mit Amidoschwarz (GRASSMANN 1951) angefärbt und auf einer Glasplatte getrocknet. Um ein Verziehen zu vermeiden, zogen wir die gefärbte Hälfte mittels einer transparenten Klebefolie von der Platte ab und klebten sie unter das Radiogramm. - Durch Ausplanimetrieren der Flächen ließ sich der im Inter-α-Bereich transportierte Anteil der zugegebenen Hormonmenge berechnen (T₄(TBG)).

$$T_4(\text{TBG}) = \frac{\text{Inter-}\alpha\text{-Bereich} \cdot T_4(\text{zugegeben})}{\text{Gesamt-Radiogramm}}$$

Maße: T₄(TBG) und zugegebene Menge T₄ in µg%,
Flächen als Planimeterwerte.

6. Statistische Auswertung

Als Streuungsmaß gebrauchten wir die Standardabweichung (σ). Sie wurde, da wir mit weniger als 30 Versuchspersonen arbeiteten, nach folgender Formel berechnet:

$$\sigma_X = \sqrt{\frac{\sum (X - M)^2}{n - 1}}$$

X = Meßwert

M = arithmetischer Mittelwert der Messungen

n = Anzahl der Messungen

I. U N T E R S U C H U N G E N Z U R M E T H O D I K

1. E r g e b n i s s e

Um unseren Experimenten eine sichere Methodik zugrunde legen zu können, versuchten wir Fehlerquellen auszuschalten, indem wir den Einfluß der einzelnen Arbeitsgänge auf die $*T_3$ -E.A. überprüften.

a) Einfluß von Heparin auf die $*T_3$ -E.A.

Um einen Verdünnungseffekt zu vermeiden, verwendeten wir Heparin als Antikoagulans. Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, hatte der Heparinzusatz zum Blut einen Anstieg der Trijodthyronin-Erythrozyten-Aufnahme zur Folge. Der p_H -Wert des Präparates betrug 7,28 und wich damit von dem des Blutes nur wenig ab. - Auf der Abszisse des Diagramms wurden die Heparinmengen aufgetragen, die zu jeweils 1 ml defibriniertem Blut mit einem Hämatokrit von 45 zugegeben wurden. Für den Anfangsteil der Kurve galt folgende Näherungsgleichung:

$$\% *T_3\text{-E.A.} = 3,6 \cdot 10^{-3} \text{ I.E. Heparin/ml Blut} + 9$$

Wurden größere Mengen zugesetzt, so flachte die Kurve ab und ging schließlich - ungefähr bei 4000 I.E. Heparin pro ml Blut - in ein Plateau über, das etwa 50 % über dem Ausgangswert lag. Ein ähnliches Ergebnis erhielten wir auch mit nicht defibriniertem Blut. -

Die in den folgenden Versuchen verwendete Heparinmenge überstieg nie 30 I.E. (0,006 ml Thrombophob)

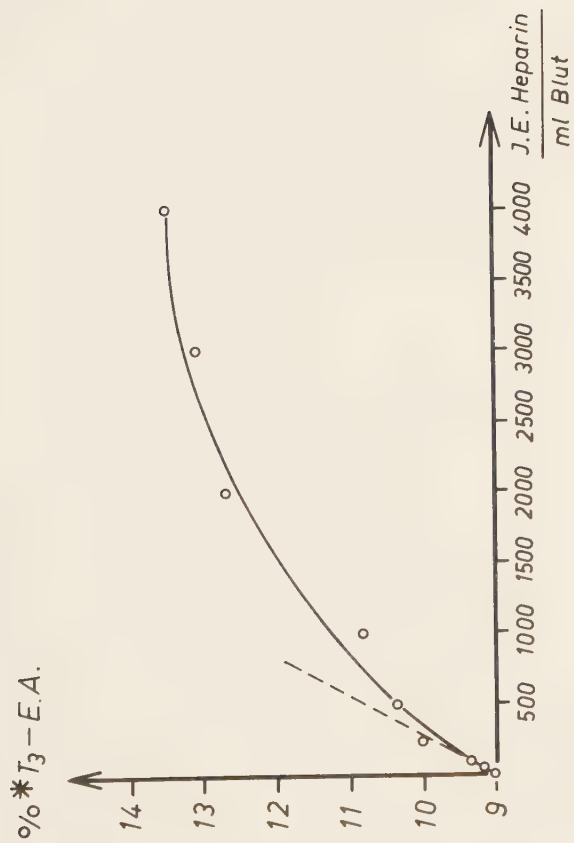


Abb. 2 Anstieg der $*T_3$ -E.A. durch Zugabe von Heparin

pro ml Blut. Nach der oben angegebenen Näherungsgleichung würde dadurch die $*T_3$ -E.A. um etwa 0,1% ansteigen.

b) Einfluß der Blutlagerung auf die $*T_3$ -E.A.

Das mit Heparin versetzte Blut wurde in luftdicht verschlossenen Gefäßen bei verschiedenen Temperaturen gelagert. - Eine 2-stündige Lagerung bei 21°C hatte keinen Einfluß auf die $*T_3$ -E.A.: Bei dem 10 min nach der Entnahme inkubierten Blut ($p_H = 7,60$) wurde eine $*T_3$ -E.A. von 8,69 % ($n=4$) gefunden, während sie bei dem über 2 Stunden gelagerten Blut ($p_H = 7,75$) 8,65 % ($n=4$) betrug. - Anders lagen die Verhältnisse bei über längere Zeit gelagertem Blut. Tabelle 1 a gibt einen Ver-

Tab. 1 Anstieg der $*T_3$ -E.A. bei der Lagerung von heparinisiertem Blut in luftdicht verschlossenen Gefäßen

a) bei 8°C

	1 n	24 h	48 h	96 h
1	5	7,2	5,9	
2	4,1	7,2	6,1	
3	2,8	4,8	6,2	
4	6,8	10,2	11,5	
5	4,9	7,8	6,8	
6	4,1	5,6	5,6	
7	4,6	5,1	5,2	
8		7,7		11,5
9		5,7		9,5
10		5,2		9,5

b) bei 20°C

	0 h	4 h	12 h	24 h	30 h	32 h	40 h	44 h	56 h	60 h	72 h	84 h
1	8,5		8,5	8,5		8,8		8,7	8,8			
2		8,9	8,8		10		9,5		9,5	9,5	10,3	10,3

such wieder, bei dem Blut verschiedener Spender bei 8°C gelagert wurde. Die Lagerung hatte ein Ansteigen der *T_z -E.A. zur Folge. Nach 24 Stunden wurden - im Vergleich zu den 1 Stunde nach der Entnahme durchgeführten Messungen - im Mittel etwa 50 % höher liegende Aufnahmewerte gefunden. Nach Lagerungszeiten über 24 Stunden war eine mehr oder minder starke Hämolyse zu beobachten; die Aufnahmewerte stiegen nur noch gering an; einige - Nr. 1, 2, 5 - fielen wieder ab. - Wesentlich geringer war der Anstieg, wenn wir bei 2°C lagerten (Tab. 1b). Auch hier trat nach 24 Stunden Hämolyse auf.

c) Einfluß der Plasmakonzentration von Radio-
tr. Jodthyronin auf die *T_z -E.A.

Um trotz kurzer Meßzeiten (1-2 min) eine ausreichende Meßgenauigkeit zu erzielen, durfte eine Aktivität von 1500 Imp./min bei der ersten Messung nicht unterschritten werden. Da aber die spezifische Aktivität des *T_z -Präparates der verschiedenen Chargen stark schwankte und mit zunehmendem Alter absank, wollten wir den Bereich festlegen, in welchem die *T_z -E.A. durch die *T_z -Zugabe nicht wesentlich verändert wird.

Aus Abbildung 3 A (obere Kurve) geht hervor, daß die *T_z -E.A. in dem untersuchten Konzentrationsbereich proportional der *T_z -Menge ansteigt. Eine Erhöhung der T_z -J¹³¹-Konzentration von 1,62 auf 1,82 g% - einer Menge, über die wir bei unseren übrigen Versuchen nicht hinausgingen - hatte im Normalblut einen Anstieg der Aufnahme von 3 % zur Folge (Tab.2).

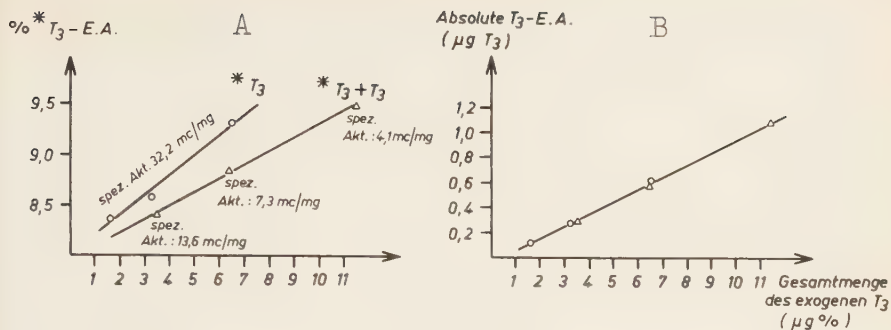


Abb. 3 Die prozentuale T_3 -J¹³¹-E.A. (A) und die absolute T_3 -E.A. (B) in Abhängigkeit von der spezifischen Aktivität und der Plasmakonzentration von Trijodthyronin

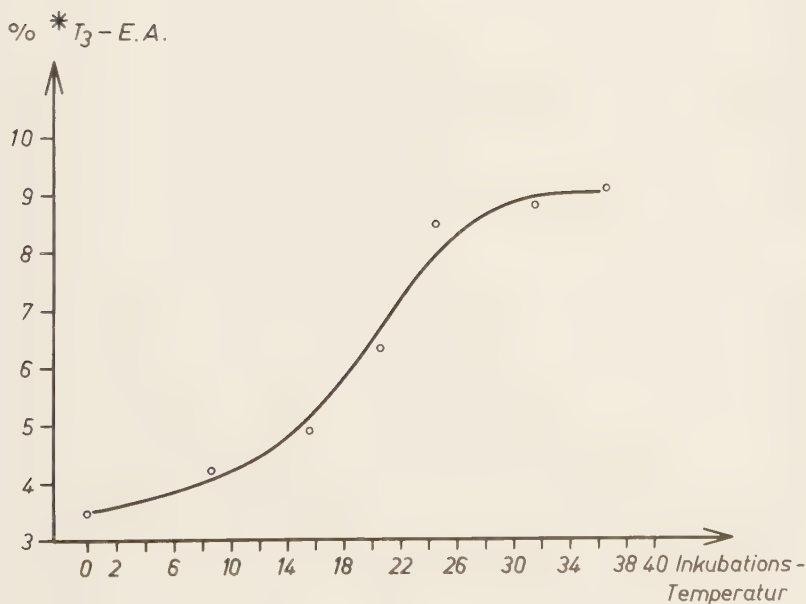


Abb. 4 Verhalten der $*T_3$ -E.A. bei verschiedenen Inkubationstemperaturen (Inkubationszeit 2 h; Hk = 45)

Tab. 2 Verhalten der $*T_3$ -E.A. bei Zugabe verschiedener Mengen von Radio-Trijodthyronin

Zugesetztes T_3 -J ¹³¹ ($\mu g\%$)	1,62	3,24	6,5
% $*T_3$ -E.A.	8,36 (n = 7)	8,6 (n = 6)	9,34 (n = 7)
Anstieg in %	0	3	12

d) Einfluß der Inkubationstemperatur auf die $*T_3$ -E.A.

Der von uns untersuchte Temperaturbereich lag zwischen 2 und 37°C, dabei wurde eine Inkubationsdauer von 2 Stunden konstant beibehalten. - Abbildung 4 zeigt das Verhalten der $*T_3$ -E.A. Im Kurvenverlauf können 3 Teile unterschieden werden: auf einen flach verlaufenden Abschnitt bis etwa 14°C folgt ein steil ansteigender, der bei etwa 30°C in ein Plateau übergeht.

e) Einfluß der Inkubationsweise auf die $*T_3$ -E.A.

Zur Kontrolle der Wirkung der Schüttelbewegung während der Inkubation wurden gleichzeitig einige Proben in Ruhe, die anderen bewegt inkubiert. Die Werte der geschüttelten Proben schwankten maximal 3,6 % um den Mittelwert, der um 236 % höher lag als bei unbewegt inkubierten. Bei den letzten betrug die maximale Schwankungsbreite 59 % des Mittelwertes (Tab.3). - Die durchschnittliche $*T_3$ -Aufnahme bei den nach der Methodik von HAMOLSKY et al.(1957) aufgearbeiteten Proben lag - gegenüber der mit unserer Methodik bestimmten Aufnahme -

Tab. 3 *T_Z-E.A. bei verschiedener Inkubationsweise

		*T _Z -Erythrozyten-Aufnahme						
Inkubation in Spezial- Zentrifugen- gläsern	a) in Ruhe	3,25	4,17	2,20	3,94	3,16	4,26	M = 3,49
	b) geschüttelt	8,34	8,15	8,2	8,15	8,45		M = 8,26
Aufarbeitung nach HAMOLSKY et al. (Inkubation in 10 ml Erlenmeyerkolben)		7,75	7,5		7,75			M = 7,49

um etwa 10 % tiefer. - HAMOLSKY et al. inkubierten das Blut in 10 ml Erlenmeyerkolben und pipetierten es zur Weiterverarbeitung in Zentrifugengläser um.

f) Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf das den Erythrozyten angelagerte *T_Z

Die Blutproben wurden zunächst wie üblich bei 37°C 2 Stunden lang im Schüttelgerät inkubiert. Bei einem Teil der Proben wurde die *T_Z-E.A. sofort, bei dem anderen erst nach verschiedenen Lagerungszeiten bei unterschiedlichen Temperaturen bestimmt. Aus den Kurven in Abbildung 5 und 6 geht hervor, daß die angelagerte *T_Z-Menge bei 32°C Lagerungstemperatur konstant blieb, während sie bei tieferen Temperaturen abnahm und bei höheren weiter anstieg. Die Desorptionsgeschwindigkeit war in der ersten Stunde am größten; sie erreichte ihr Maximum im Bereich von etwa 12 - 16°C.

g) Einfluß der Meßmethodik

Die geometrischen Verhältnisse am Szintillationszähler sind bei den beiden Messungen (I_{gesamt}, I_{Ery.}) verschieden. Bei der ersten Messung I_{gesamt} ist die Aktivität

% *T₃-E. A

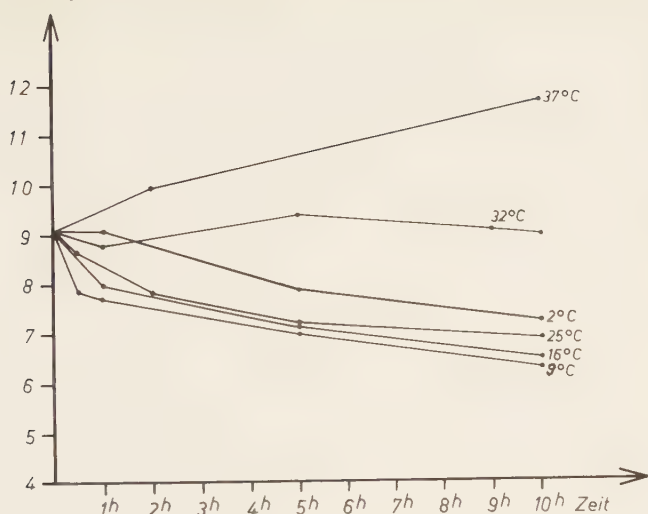


Abb. 5 Verhalten des nach der Inkubation (2 h, 37°C) an die Erythrozyten angelagerten *T₃ bei verschiedenen Lagerungs-Zeiten und -Temperaturen

% (der nach 2h Inkubation bei 37°C angelagerten Menge T₃)

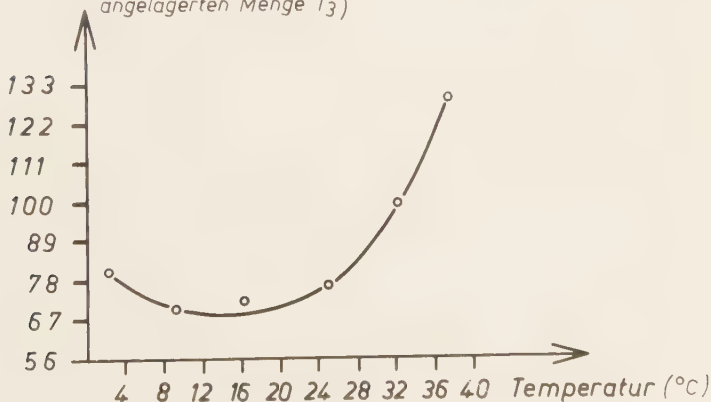


Abb. 6 Die 10 Stunden nach der Inkubation (2 h, 37°C) an den Erythrozyten gemessene *T₃-Menge bei verschiedenen Lagerungstemperaturen in Prozent der unmittelbar nach der Inkubation vorhandenen Menge

in 1 ml Blut verteilt, wobei der Flüssigkeitsspiegel etwa 1,2 cm über dem Bohrlochkristall liegt. Bei der zweiten Messung I_{Ery} werden nur die gewaschenen Erythrozyten gemessen. Der Abstand Flüssigkeitsspiegel - Kristall beträgt hier nur 0,5 - 0,6 cm. - Wir bestimmten die Ausgangsaktivität (etwa 30 000 Imp./min) zunächst bei den geometrischen Verhältnissen der zweiten Messung und füllten danach auf eine Spiegelhöhe von 1,2 cm (geometrisches Verhältnis der 1. Messung) auf. Die jetzt gemessenen Werte lagen um 0,12 % tiefer. Bei der Aktivität der gewaschenen Erythrozyten (etwa 2500 Imp./min) lagen die Meßwerte bei 1,2 cm Spiegelhöhe um 1,9 % niedriger als bei 0,5 cm. Der Unterschied betrug im Durchschnitt 1 %.

Da wir die Radioaktivitätsmessungen in Zentrifugengläsern mit 1 mm Wandstärke durchführten, prüften wir den Einfluß der Glaswand auf die Impulsausbeute. - Die Ausgangsaktivität und die Aktivität der gewaschenen Erythrozyten wurden zunächst in kleinen, dünnwandigen Reagenzgläsern gemessen. Hierauf wurden diese Gläser in die größeren Zentrifugengläser gesteckt. Die Zentrifugenglaswand verringerte beide Aktivitäten um jeweils 0,8 %.

h) Methodische Fehlerbreite

Aus den maximalen Abweichungen vom Mittelwert der Dreifachbestimmungen von 20 verschiedenen Blutproben wurde die methodische Fehlerbreite errechnet. Für die doppelte Standardabweichung ergab sich: $2\sigma_X = \pm 6,7 \%$ des Mittelwertes einer Dreifachbestimmung (Einzelwerte unter E I 1).

2. Diskussion

Die in der Literatur berichteten und die von uns erhobenen Befunde zeigten methodisch bedingte Faktoren auf, welche die $*T_3$ -E.A. stark beeinflussten. Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen haben wir eine Methodik abgeleitet, deren Einzelheiten im folgenden besprochen werden sollen.

Antikoagulantien

Nach Dicumarol- und Heparintherapie wurden erhöhte Aufnahmewerte beobachtet (HAMOLSKY et al. 1957; WALFISH et al. 1961). Die Aufnahme war aber unabhängig von der in vitro-Zugabe von Oxalat, Natriumcitrat oder Heparin (HAMOLSKY 1957). FINK (1962) dagegen fand Unterschiede bei der Verwendung verschiedener Antikoagulantien.

Wir untersuchten die Wirkung von Heparin in vitro: Schon geringe Mengen, zum Blut zugegeben, führten zu einem Anstieg der $*T_3$ -E.A., die schließlich - durch 4000 I.E. Heparin pro ml Blut - um die Hälfte des Ausgangswertes vermehrt werden konnte (Abb. 2). Bei diesem Versuch wurden Plasmaverdünnung und pH-Verschiebung vermieden. - Um eine Veränderung des Ergebnisses durch das Antikoagulant zu umgehen, setzten wir 30 I.E. Heparin pro ml Blut als obere Grenze fest. Diese Menge bewirkte einen Anstieg der $*T_3$ -E.A. um 0,1 %.

Lagerung des Blutes

Durch die Lagerung des mit Heparin versetzten Blutes nahm die Erythrozytenaufnahme von $*T_3$ zu. Bei 8°C Lagerungstemperatur war ein wesentlich schnelleres Anwachsen der Werte zu beobachten als bei 2°C. Der geringe Weiteranstieg und besonders der manchmal beobachtete Abfall bei Lagerungszeiten über 24 Stunden ist wohl in erster Linie

Folge der allmählich auftretenden Hämolyse. - Aus Tabelle 1 b ist ersichtlich, daß Heparinblut bei 2°C bis zu 24 h gelagert werden kann, ohne daß sich die *T₃-E.A. ändert. - Wir lagerten das zu unseren Versuchen verwendete Blut nie länger als 2 Stunden. Obwohl in dieser Zeit der pH-Wert angestiegen war, blieb doch die *T₃-E.A. konstant. - HAMOLSKY et al.(1957) fanden bei offen inkubierten Proben eine höhere *T₃-E.A. als bei luftdicht verschlossenen. Diesen Einfluß auf das Ergebnis versuchten wir auszuschalten, indem wir das Blut nur zum Umfüllen bzw. Umpipettieren mit der freien Luft in Berührung brachten.

Zugabe von T₃-J¹³¹

Die maximale, dem Blut zugegebene *T₃-Menge ist bei den einzelnen Autoren verschieden. Der bei unseren Versuchen eingehaltene Konzentrationsbereich von 1 - 3 µg% T₃-J¹³¹ liegt um den Mittelwert der Angaben. Er wurde auf Grund eines Versuches festgelegt, bei dem durch eine Konzentrationssteigerung von 1,6 bis 3,2 µg% *T₃ die *T₃-E.A. um 3 % anstieg.

Inkubation

Übereinstimmend zeigen die vorliegenden Berichte, daß die *T₃-E.A. nach einem schnellen Anwachsen zwischen 0 und 30 min bei weiterer Verlängerung der Inkubationsdauer schließlich in ein Plateau übergeht (WOLDRING et al.1960; FRIIS 1960; CHRISTENSEN 1960). Zwischen 80 und 120 min unterschieden sich die Aufnahmewerte nicht mehr signifikant voneinander (FINK 1962).

Die Angaben über die Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur sind nicht einheitlich. - Unsere Befunde stimmten weitgehend mit denen von CRISPELL et al.(1956b) überein: Nach einer 2-stündigen Inkubation hatte die *T₃-E.A. bei etwa 30°C Inkubationstemperatur ein Pla-

teau erreicht (Abb.4). Da die von uns gewählten Inkubationsbedingungen (2 h, 37°C) auf dem Plateau der Kurve lagen, wurde das Ergebnis durch kleine Temperatur- und Zeitschwankungen nicht beeinflusst.

Die Frage der Inkubationsweise (bewegt bzw. in Ruhe) können wir dahingehend beantworten, daß die beste Reproduzierbarkeit der Ergebnisse dann gegeben war, wenn die Erythrozyten durch Schütteln gleichmäßig im Plasma verteilt wurden und damit ihre gesamte Oberfläche wirksam wurde. Eine Hämolyse durch zu starkes Schütteln muß jedoch vermieden werden.

Desorption von *T_3 nach der Inkubation

Aus Abbildung 6 geht hervor, daß bei einer Zimmertemperatur von 18 - 25°C, bei der wir unsere Versuche durchführten, die Desorptionsgeschwindigkeit des an die Erythrozyten angelagerten *T_3 groß ist. - Um die durch die Desorption verlorene *T_3 -Menge konstant gering zu halten, erfolgte die erste Radioaktivitätsmessung nicht, wie bei der von HAMOLSKY et al. (1957) angegebenen Methode, nach, sondern vor der Inkubation. Dadurch konnte die Waschung ohne Zeitverlust angeschlossen werden. Dies unterschiedliche Vorgehen erklärt wahrscheinlich die Tatsache, daß unsere Werte gegenüber denen von HAMOLSKY um etwa 10% höher lagen.

Waschen der Erythrozyten

Dieser Arbeitsgang kann die *T_3 -E.A. auf zweierlei Weise beeinflussen:

Durch Plasmaentfernung: Verschiedene Untersucher stellten die *T_3 -E.A. in Abhängigkeit von der Anzahl der Waschungen dar (MEADE 1960; FINK 1962; GOOLDEN 1962). Aus diesen Kurven ist abzulesen, daß nach 3 - 5 maligem Waschen mit isotonischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 10

das Plasma praktisch von den Erythrozyten entfernt wurde. Wir betrachteten daher 5 Waschungen als ausreichend. - Bei der Messung der Radioaktivitätsverteilung nach der Inkubation (s. Ergebnisse II 1 a, Tab.4) fanden wir, daß das Normalplasma bei einem Hämatokrit von 40 insgesamt 80 % des zugegebenen T_3 -J¹³¹ enthielt; 20 % davon waren um die Erythrozyten herum angelagert. Die gewaschenen Erythrozyten enthielten nur noch 7 % der Ausgangsmenge. - Die Radioaktivität einer Plasmavolumeneinheit war also erheblich größer als die einer Erythrozytenvolumeneinheit. Deshalb achteten wir beim Waschen darauf, daß stets alle Erythrozyten aufgewirbelt wurden und sich kein fester Bodensatz bildete, der die optimale Plasmaentfernung verhindern konnte.

Die E l u t i o n von an die Erythrozyten angelagertem $*T_3$ wird mit zunehmender Waschkdauer (Abb.5) und Menge an Waschflüssigkeit größer (MEADE 1960). - Um die Veränderung durch den Waschvorgang konstant zu halten, führten wir diesen immer in einer bestimmten Minimalzeit durch; eine gleichbleibende Menge an Waschflüssigkeit wurde durch markierte Zentrifugengläser gewährleistet.

Radioaktivitätsmessung

Der durch die unterschiedlichen geometrischen Verhältnisse bei beiden Messungen entstehende Meßfehler beträgt etwa 1 % und braucht, ebenso wie die Absorption der Strahlung an der Zentrifugenglaswand, die bei beiden Aktivitäten gleich groß ist (0,8 %), nicht berücksichtigt zu werden.

Vergleich der verwendeten Methodik mit der von HAMOLSKY et al. angegebenen; ihre Eignung für das klinische Routinelabor

Die von uns verwendete Methodik wich vor allem darin von der Arbeitsweise HAMOLSKYS et al. ab,

daß wir das Blut nicht in Erlenmeyerkolben inkubierten, sondern in besonderen Zentrifugengläsern. Dadurch konnte die erste Messung schon vor der Inkubation durchgeführt werden; außerdem entfiel das Umpipettieren zwischen den Arbeitsgängen. Die Fehlerbreite von $2\sigma_X = \pm 6,7\%$ des Mittelwertes einer Dreifachbestimmung entsprach etwa der von HAMOLSKY et al. angegebenen. - Die Untersuchung von 8 Patienten nahm 4 - 5 Stunden in Anspruch. Die Messung der $*T_z$ -E.A. würde sich somit, was den Zeitaufwand angeht, für das klinische Routinelabor eignen. - Gute Ergebnisse können aber nur erwartet werden, wenn der Einfluß der beschriebenen Faktoren klein und konstant gehalten wird. Das ist in der Praxis nur möglich, wenn der Test in der Hand eines erfahrenen Untersuchers liegt.

II. UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS DER $^{*}T_3$ -E.A.

1. Ergebnisse

a) Analyse des Waschvorganges

Die Messung des Aktivitätsverlusts im Plasma nach der Inkubation und der nach 5 Waschungen an den Erythrozyten wiedergefundenen Radioaktivität - der $^{*}T_3$ -Erythrozyten-Aufnahme - erlaubt Aussagen über den Waschvorgang.

Bei den 4 untersuchten Normalpersonen (Tab.4) lag - bei einem Hämatokritwert von 39 - die Plasmaaktivität nach der Inkubation im Mittel 20 % unter der Ausgangsaktivität. Etwa 30 % des Defizits hafteten den gewaschenen Erythrozyten an; 70 % waren verlorengegangen. Mit steigenden Hämatokritwerten nahm der Waschverlust ab.

Im Blut einer graviden Patientin lagen andere Verhältnisse vor (s.Tab.5b; für $^{*}T_3$ -Plasmakonzentration 0,3 $\mu g\%$). Das Plasmadefizit war (mit etwa 20 %) zwar gleich dem im Blut der Normalpersonen gemessenen, die angelagerte $^{*}T_3$ -Menge (bei Hk = 40) jedoch betrug nur 20 % hiervon; sie war also um 10 % kleiner.

Mit derselben Versuchsanordnung untersuchten wir Blut, dem in vitro stabiles T_3 zugesetzt wurde (Tab.5a und 5b). - Das prozentuale Aktivitätsdefizit im Plasma nahm mit steigender T_3 -Plasmakonzentration zu, der Waschverlust dagegen ab. - Der oben beschriebene Unterschied des Waschverlusts bei den beiden untersuchten Blutarten wurde mit zunehmender T_3 -Konzentration geringer und war bei Konzentrationen über 4000 $\mu g\%$ T_3 ganz aufgehoben.

Tab. 4 Radioaktivitätsdefizit im Plasma nach der Inkubation, *T₃-E.A. und Waschverlust bei verschiedenen Hämatokritwerten (4 Normalpersonen)

	1			2		3			4			rel. mittl. HK = 38,9
HK	29,5	38	41	3	38	29	39	40	28	40,5	40	
I	18,8	24,1	26	11,5	14,5	18,4	20	28,5	12,7	19	22	M = 20
II	3,9	5,3	8,5	4,2	5,8	4,2	6,85	10	3,9	5,3	8,3	
III	21,8	21,0	30	30,8	35	22,8	34	35	31,2	28	37,8	M = 29,7
IV	79,2	78,4	70	63,2	65	77,2	66	65	68,5	2	62,2	M = 70,3 %

Erklärung siehe bei Tab.5

Tab. 5 Radioaktivitätsdefizit im Plasma nach der Inkubation, *T₃-E.A. und Waschverlust bei verschiedenen T₃-Plasmakonzentrationen

a) Euthyreose

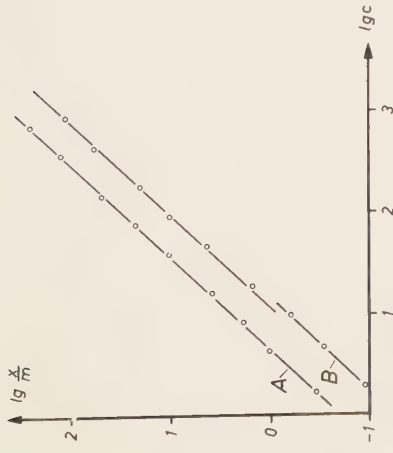
	2	5	10	20	50	100	200	500	1000
I	17,8	18,85	19,3	20	21,4	22,8	26	29,75	27,2
II	7,8	8,86	8,3	9,86	8,86	10,6	11	12,15	12
III	32,2	31,0	32,8	30,4	41,5	46,4	44	47	44,2
IV	67,8	68,4	67,4	60,6	68,5	63,6	56	53	55,8

b) Gravidität

	0,3	2	5	10	20	50	100	200	500	1000	4000	10000	20000
I	17	19,4	19	21	21	23	24	25	28	26	27	27	31
II	2,7	2,7	3,1	4,05	4,3	4,4	5,95	9,7	9,1	9,9	11,9	12,0	12,9
III	17,3	18,6	19,3	22,2	22,2	23,6	24,8	38,8	34,7	38,1	44	46,6	41,6
IV	60,7	61,4	60,7	71,8	74,8	70,4	75,2	61,2	61,3	61,9	56	53,4	58,4

Legende zu Tab.4 und 5

- I = T₃-Plasmakonzentration (µg%)
- II = Radioaktivitätsdefizit im Plasma nach der Inkubation (in Prozent der Ausgangsaktivität)
- III = %*T₃-E.A.
- IV = T₃-E.A. in Prozent von II
- V = Waschverlust in Prozent von II



Euthyreose

A: $\lg \frac{x}{m} = -0,72 + 1,09 \lg c$

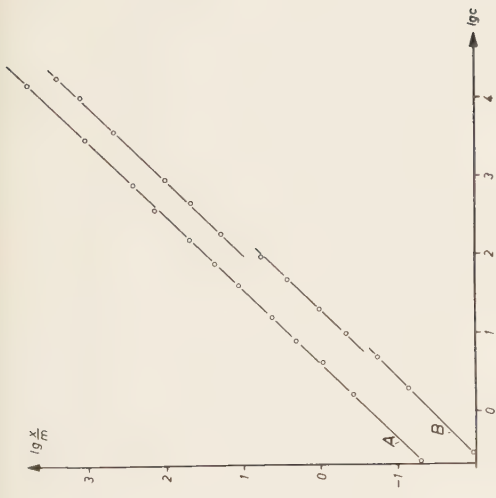
B: für $\lg c < 0,97$ gilt: $\lg \frac{x}{m} = -1,28 + 1,09 \lg c$

für $\lg c > 1,26$ gilt: $\lg \frac{x}{m} = -1,17 + 1,09 \lg c$

a) Adsorptionsisothermen bei einer Normalperson

Abb. 7 Radioaktivitätsdefizit im Plasma nach der Inkubation (Adsorptionsisotherme A), T₃-E.A. (Adsorptionsisotherme B) und Waschverlust (Ordinaten Differenz) in Beziehung zur T₃-Plasmakonzentration.

Abszisse: Logarithmus der im Gleichgewicht stehenden T₃-Menge ($\mu\text{g}\%$)
 Ordinate: Logarithmus der pro ml Erythrozyten angelagerten T₃-Menge ($\mu\text{g}\%$)



Grandirol

A: $\lg \frac{x}{m} = -0,42 + 1,06 \lg c$

B für $\lg c < 0,68$ gilt: $\lg \frac{x}{m} = -1,43 + 1,06 \lg c$

für $\lg c > 0,98 - 1,97$ gilt: $\lg \frac{x}{m} = -1,34 + 1,06 \lg c$

für $\lg c > 2,26$ gilt: $\lg \frac{x}{m} = -1,03 + 1,06 \lg c$

b) Adsorptionsisothermen bei einer Graviden

Mit 5 mal gewaschenen, in Kochsalzlösung suspendierten Erythrozyten prüften wir die Abwaschbarkeit des angelagerten *T_3 . - Die Erythrozyten nahmen 88 % des zugegebenen Radiotrijodthyronin auf. Bei jeder Waschung wurde diese Menge etwa um 5 % reduziert (Einzelwerte s. unter E I 2).

b) Analyse der T_3 -Anlagerung an die Erythrozyten

In den Abbildungen 7a und 7b haben wir die Werte der Tabellen 5a und 5b zu der im Gleichgewicht stehenden T_3 -Konzentration in Beziehung gesetzt. - Auf der Ordinate wurden die Logarithmen der auf 1 ml Erythrozyten bezogenen Meßwerte des Plasma-defizits (Kurve A) und der T_3 -E.A. (Kurve B) aufgetragen - auf der Abszisse die Logarithmen der im Gleichgewicht stehenden T_3 -Menge. - Es ergaben sich Geraden; damit wurde die Adsorptionsgleichung von FREUNDLICH erfüllt. *)

Die Kurven A und B verhielten sich zueinander parallel; der Unterschied in der Steigung der Kurven des Normalblutes und dem der Graviden betrug 50'. - Im Verlauf der Kurven B fanden sich Stufen. Bei der untersuchten Normalperson war die Kurve e i n m a l - im Bereich zwischen 10 - 20 $\mu g\%$ T_3 - abgesetzt, bei der Graviden z w e i m a l - zwischen 5 - 10 $\mu g\%$ T_3 und 100 - 200 $\mu g\%$ T_3 (s. auch Tab. 5b).

*) Für Adsorptionsvorgänge gilt (FREUNDLICH 1930):

$\frac{x}{m} = \beta \cdot c^{1/p}$. Bei Logarithmierung ergibt sich die Gleichung einer Geraden: $\lg \frac{x}{m} = \lg \beta + \frac{1}{p} \cdot \lg c$.
 $\frac{x}{m}$ = das von 1 ml Erythrozyten angelagerte T_3 (μg);
 c = zugegebenes T_3 ($\mu g\%$) minus adsorbiertem T_3 ($\mu g\%$).

c) Einfluß der spezifischen Aktivität

Den Einfluß der spezifischen Aktivität prüften wir, indem wir einmal nur T_3-J^{127} , das andere Mal T_3-J^{127} als Tracer T_3-J^{127} zusetzten. Die prozentuale $*T_3$ -E.A. blieb mit abnehmender spezifischer Aktivität immer mehr hinter der bei gleichbleibender spezifischer Aktivität gemessenen zurück (Abb.3 A). Absolut war jedoch die aufgenommene Hormonmenge gleich groß (Abb.3 B). - Aus beiden Kurven berechneten wir das Absinken der Aufnahme durch die Zugabe von T_3-J^{127} (Tab.6).

Tab. 6 Absinken der T_3-J^{131} -Aufnahme
durch Erhöhung der T_3-J^{127} -Konzentration des Blutes

T_3-J^{127} ($\mu g\%$)	1	2	3
Verringerung der $*T_3$ -E.A.um	1,0 %	1,2 %	5,5 %

d) Trityratthyronanlagerung an Plasmafraktionen

Nach der Inkubation des Serums mit T_3-J^{131} erfolgte die elektrophoretische Auftrennung der Proteinfractionen. Das in Abbildung 8 über dem Elektropherogramm angebrachte Radiogramm zeigt die Radioaktivitätsverteilung über die einzelnen Fraktionen. - Wurden kleine Mengen zugegeben, so lag das Maximum der Anlagerung bei der Papierelektrophorese (Abb.8 A) zwischen der α_1 - und α_2 -Fraktion. Bei höheren Konzentrationen lagerten auch Albumin, in erster Linie aber die Globuline das Hormon an (Abb.8 B und 8 C). Verwendeten wir statt Filterpapier Membranfolien als Träger, so blieb T_3-J^{131} an der Auftragstelle liegen (Abb.8 D).

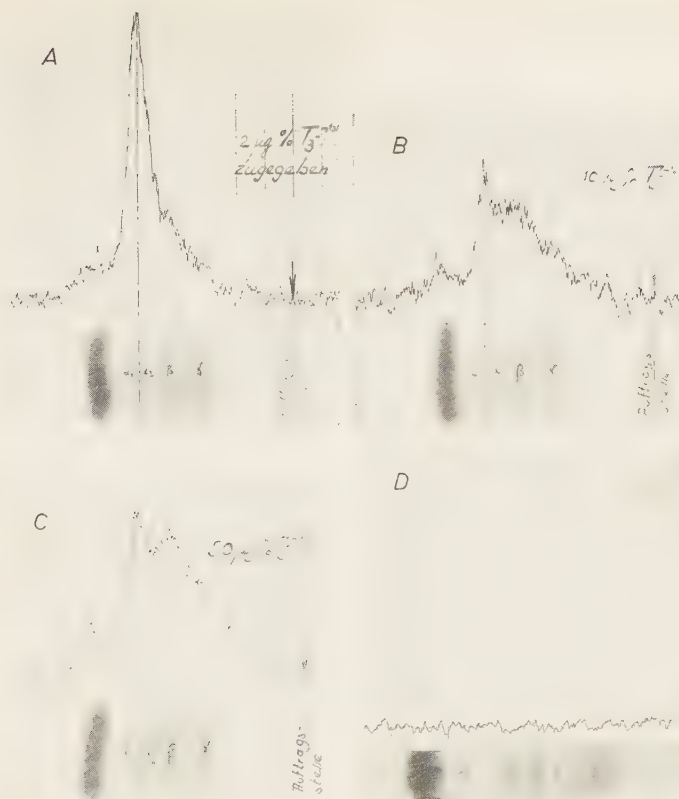


Abb. 8 T_3 -Verteilung bei verschiedenen T_3 -Konzentrationen auf die elektrophoretisch getrennten Plasmafraktionen veranschaulicht durch Radiogramme

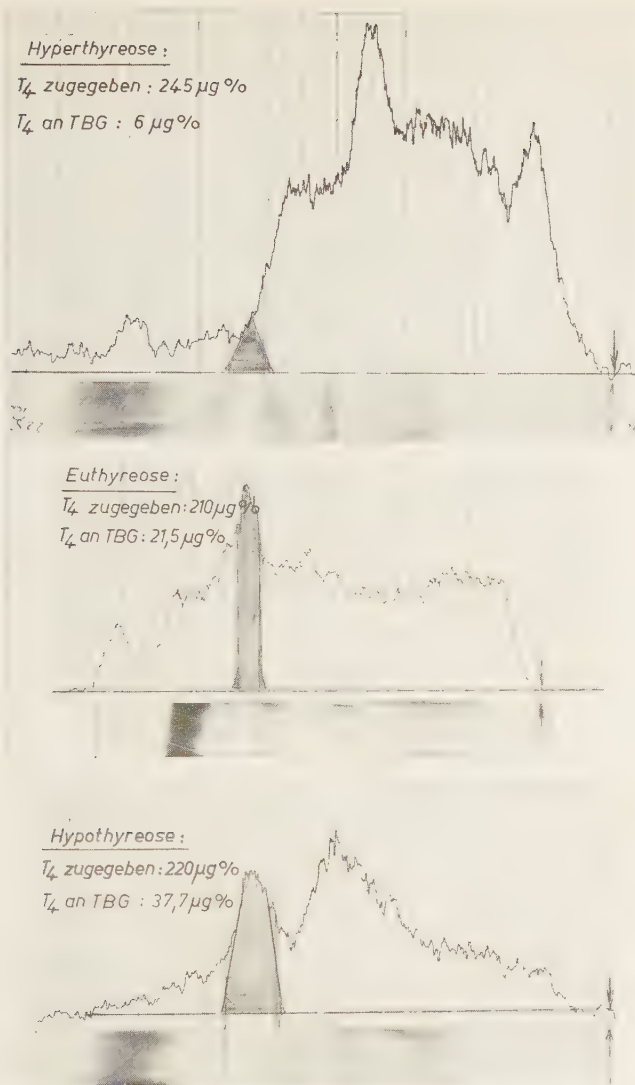


Abb. 9 Thyroxinverteilung über elektrophoretisch getrennte Plasmafraktionen nach Absättigung von TBG bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen

e) Thyroxin-Bindungskapazität von TBG

Mittels der Elektrophorese auf Membranfolien im Tris-Maleat-Puffer ($\text{pH} = 8,6$; $\mu = 0,1$) bestimmten wir die an TBG angelagerte T_4 -Menge bei verschiedenen T_4 -Konzentrationen im Plasma (Abb.9). - In Abbildung 10 wird gezeigt, wie die T_4 -Anlagerung mit der T_4 -Plasmakonzentration anstieg und schließlich einen Maximalwert erreichte, der die T_4 -Bindungskapazität von TBG unter den gegebenen Bedingungen darstellt. - Die TBG-Kapazität bei den untersuchten Schilddrüsenfunktionszuständen war verschieden (Tab.7). Im Blut zweier hyperthyreoter Patienten und eines Patienten mit Hypothyreose verbunden mit Hyperlipämie fanden wir im Vergleich zu dem bei der Normalperson gemessenen Wert reduzierte Bindungskapazitäten. Die beiden anderen hypothyreoten Patienten - besonders die strumaresezierte Patientin - hatten erhöhte TBG-Kapazitäten.

Tab. 7 Die elektrophoretisch im Tris-Maleat-Puffer auf Membranfolien bestimmte TBG-Bindungskapazität für T_4 bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen

Diagnose	TBG-Kapazität ($\mu\text{g}\%$ T_4)
Hyperthyreose	c
Hyperthyreose	5
Euthyreose	10
Hypothyreose	18,5
Hypothyreose nach J^{131} -Therapie wegen Struma maligna	22
Hypothyreose verbunden mit Hyperlipämie	20,5

} in Abb. 10 dargestellt

f) Latente TBG-Bindungskapazität für Thyroxin

Die Erhöhung der Plasmakonzentration durch Zugabe von T_4 -J¹²⁷ hatte eine vermehrte $*T_z$ -Aufnahme der Erythrozyten zur Folge. Aus Abbildung 11 (halb-logarithmisches System) geht hervor, daß die Hormonaufnahme bis zu einer bestimmten Konzentration nur wenig zunahm, nach deren Überschreitung aber rasch anstieg und schließlich in ein Plateau überging. Die Kurve der Patientin mit einer essentiellen Hyperlipämie (Gesamtlipide 7682 mg%) zeigte in ihrem Gesamtverlauf ein trüges Anwachsen der Aufnahme; die geschilderten Kurvenabschnitte waren - wie auch bei der Kurve der hyperthyreoten Patientin - nicht deutlich ausgeprägt. - Den Abszissenwert des Kurvenknicks bezeichneten wir als die "latente" TBG-Bindungskapazität für T_4 . Sie war bei dem hypothyreoten Patienten und der Graviden höher als bei der Normalperson. Ein Nephrose-Kranker hatte eine verringerte Kapazität (Tab.8).

Tab. 8 Aus Abb.11 abgelesene Werte der latenten TBG-Bindungskapazität für T_4

Diagnose	latente TBG-Kapazität ($\mu g\%$ T_4)	$*T_z$ -E.A. bei Zugabe von 2 $\mu g\%$ T_4 (Hk = 40)
Gravidität (Ende Mens 4)	~ 2.5	4.5
Hypothyreose	1.5	3.5
Euthyreose	1.0	2.5
Nephrose	1.5	2.5

Im Blut der Normalperson reduzierten wir durch Plasmaverdünnung (mit einem NaCl-Borat-Puffer, pH = 7.4) die Bindungskapazität - erhöhte T_z -Aufnahmewerte waren die Folge (Tab.9).

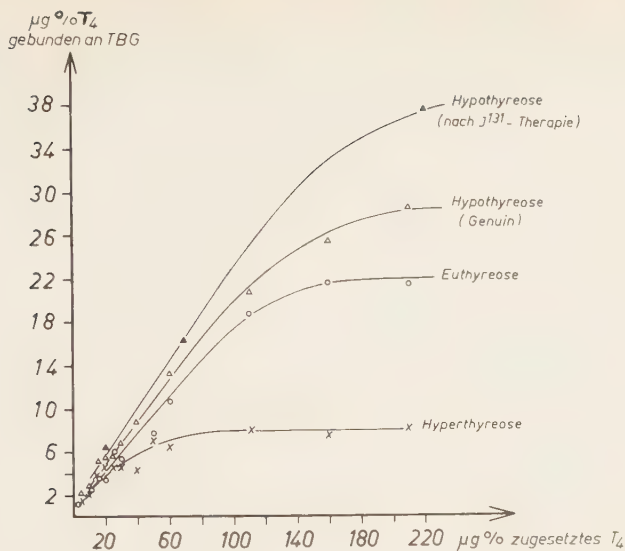


Abb.10 Elektrophoretisch bestimmte T_4 -Anlagerung an die Inter- α -Fraktion bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen

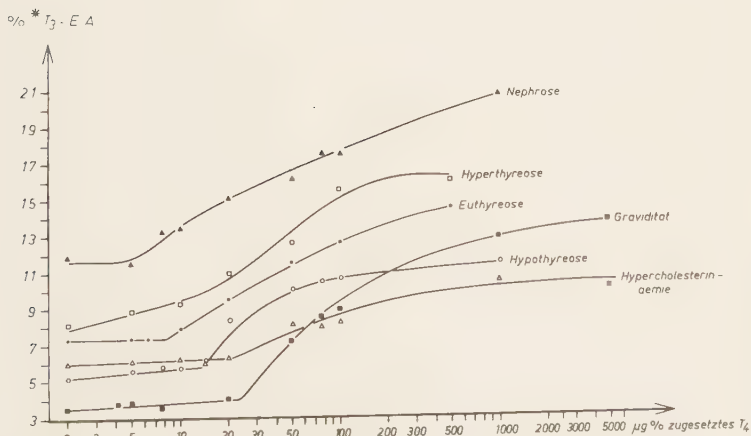


Abb.11 Verhalten der $*T_3$ -E.A. nach Zugabe von stabilem Thyroxin zum Blut (halblogarithmisches System)

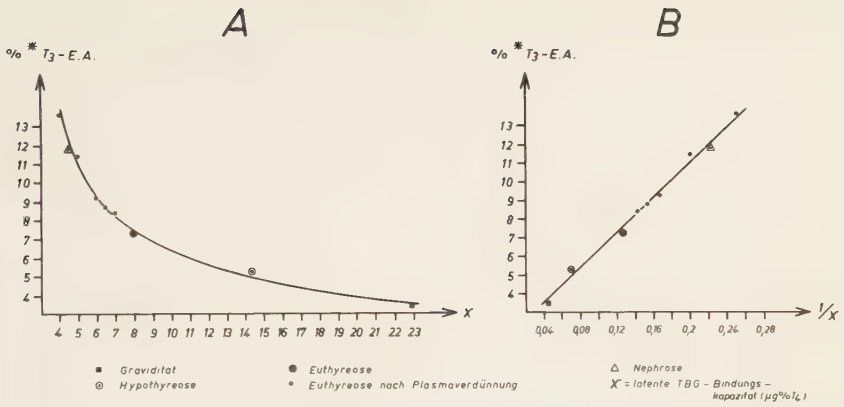


Abb.12 $*T_3$ -E.A. in Abhängigkeit von der latenten TBG-Bindungskapazität für T_4

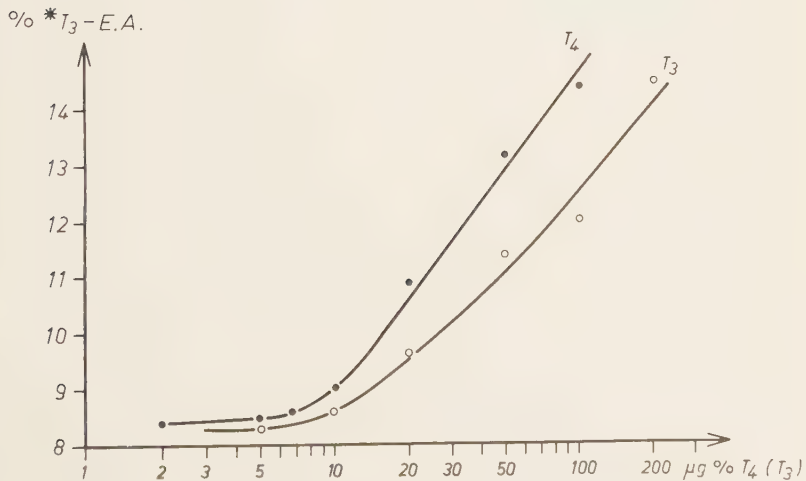


Abb.13 Verhalten der $*T_3$ -E.A. nach Erhöhung der T_3 - bzw. T_4 -Plasmakonzentration

Tab. 9 Anstieg der $*T_3$ -E.A. nach Reduktion der latenten TBG-Kapazität durch Plasmaverdünnung

latente TBG-Kap. ($\mu g\%$ T_4)	8,2	7	6,5	6	5	4
$*T_3$ -E.A. (Hk = 40)	7,2	8,45	8,8	9,25	11,5	13,65

Wurde die latente TBG-Bindungskapazität zu der $*T_3$ -E.A. in Beziehung gesetzt, so ergab sich ein Hyperbelausschnitt (Abb.12 A). Die $*T_3$ -E.A. war den Reziprok-Werten der latenten TBG-Kapazität proportional (Abb.12 B).

g) Vergleich der TBG-Affinität zu Thyroxin und Triiodthyronin

Bei 4 Patienten bestimmten wir gleichzeitig die prozentuale $*T_4$ - und $*T_3$ -E.A. Im Durchschnitt war die $*T_4$ -E.A. 6,7 mal kleiner als die $*T_3$ -E.A. (Tab.10).

Tab.10 Gegenüberstellung der $*T_3$ - und $*T_4$ -E.A.

Diagnose	Hk	% $*T_4$ -E.A.	% $*T_3$ -E.A.
Euthyreose	52	1,12	1,2
Euthyreose	53	1,36	1,95
Hypothyreose	62	1,33	1,2
Hypothyreose	64	1,4	1,6

In einem weiteren Versuch setzten wir dem Blut einer Normalperson steigende Mengen von T_4 - und T_3 -J¹²⁵ zu und bestimmten die $*T_3$ -E.A. Nach Thyroxinzugabe beobachteten wir einen stärkeren Anstieg der $*T_3$ -E.A. (Abb.13).

2. Diskussion

Bevor wir zur eigentlichen Deutung der Aussage des Tests übergehen, soll auf einige für die Hormonanlagerung an die Erythrozyten im Blut wichtige Eigenschaften der beiden Phasen des Systems eingegangen werden.

Anlagerung von Schilddrüsenhormonen an gewaschene Erythrozyten

Untersuchungen der Hormonanlagerung an gewaschenen, in Kochsalz- oder Pufferlösung suspendierten Erythrozyten hatten folgendes Ergebnis: Erythrozyten von Schilddrüsenkranken verhielten sich gleich denen von Normalpersonen (INGBAR & FREINKEL 1960b). Nach der Waschung wurde an 1 ml Erythrozyten etwa 75 % T_3 und 60 % des zugegebenen T_4 gemessen. NaJ dagegen wurde fast vollständig abgewaschen (CRISPELL & COLEMAN 1956b). Die Affinität der Erythrozyten zu T_3 ist also größer als zu T_4 , während sie NaJ gegenüber praktisch zu vernachlässigen ist. - Die Hormonanlagerung war vom Stoffwechsel der Erythrozyten unabhängig (CRISPELL & COLEMAN 1956b; FINK 1962) und erfüllte die Adsorptionsgleichung nach FREUNDLICH (FINK 1962).

Anlagerung von Schilddrüsenhormonen an Plasmafraktionen

Unser heutiges Bild von der Hormonanlagerung im Plasma beruht fast ausschließlich auf Befunden, die mittels der Papierelektrophorese gewonnen wurden. Um abschätzen zu können, inwieweit deren Aussage mit den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen übereinstimmt, soll zuerst diese Methodik besprochen werden.

ROBBINS & RALL (1957) wiesen nach, daß sich zwischen dem in vitro dem Serum zugesetzten und dem

endogenen Thyroxin ein Gleichgewicht einstellt. Die Radioaktivitätsverteilung über die Fraktionen entspricht also der Verteilung des g e s a m - t e n Thyroxin im Plasma.

Bei der Elektrophorese kommt zu der Affinität der Plasmaproteine zu den Hormonen die des Trägermaterials hinzu. - Die Hormonverteilung über die elektrophoretisch getrennten Fraktionen hängt, wie wir zeigten, entscheidend von dieser Größe ab. - In Abbildung 8 ist die T_3 -Verteilung im Elektropherogramm auf zwei verschiedenen Trägermaterialien dargestellt. Die verwendeten Membranfolien (Abb. 8 D) hatten offensichtlich eine höhere Affinität zu T_3 als die Plasmaproteine, weshalb das Hormon an der Auftragsstelle liegen blieb. Bei Filterpapier dagegen war die Proteinaffinität größer und die Hormone wanderten an die Proteine angelagert (Abb. 8 A-C). - Die in Abbildung 9 wiedergegebenen, auf Membranfolien gemessenen Radiogramme entsprechen nicht den in der Literatur geschilderten. In den dargestellten T_4 -Konzentrationsbereichen wäre bei Benutzung von Filterpapier als Träger Albumin die T_4 -reichste Fraktion. - Das Zustandekommen dieses Unterschiedes ist ebenfalls durch die hohe T_4 -Affinität der Membranfolien zu erklären. Diese wurde nur von TBG wesentlich übertroffen. Der Träger adsorbierte daher während der Wanderung der Proteine alles nicht hier angelagerte Thyroxin.

Heute wird, wie eingangs erwähnt, die Ansicht vertreten, daß TBPA nur T_4 , nicht aber T_3 anlagert und daß daher TBPA für die T_3 -Erythrozyten-Aufnahme keine Bedeutung hat (OSORIO et al. 1961). - Es ist denkbar, daß auch dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Hormone zum Teil der Adsorption an das Filterpapier zuzuschreiben ist. Jedenfalls kann - allein auf Grund papierelektrophoretischer Untersuchungen - eine Beeinflussung der T_3 -E.A. durch TBPA nicht ausgeschlossen werden.

ROBBINS (1956) gelang es mit Hilfe der sogenannten "Reverse flow"-Elektrophoresetechnik nachzuweisen, daß die T_4 -Bindungskapazität von TBG begrenzt ist. Bei dieser Methodik werden die Globuline durch einen der elektrophoretischen Wanderung entgegengerichteten Pufferstrom auf die Kathode zu verlagert, während die höher geladenen Albumine an der Auftragsstelle liegen bleiben. Dieses Vorgehen ermöglichte die Darstellung der Inter- α -Fraktion ohne die bei der üblichen Technik durch Proteinadsorption am Papier störenden Albumine. Es mußte jedoch eine schlechtere Auftrennung in Kauf genommen werden.

In dem von uns angewandten Verfahren konnte die Bildung von Proteinschleppen hinter den wandernden Fraktionen vermieden werden durch die Verwendung von Membranfolien, die praktisch keine Eiweißadsorption entwickeln. - Unsere Meßergebnisse im Blut von eu- und hypothyreoten Patienten stimmten mit denen durch die Reverse-flow-Elektrophorese gemessenen ROBBINS & RALL überein. Bei den beiden untersuchten hyperthyreoten Patienten fanden wir jedoch nicht, wie in der Literatur angegeben, normale TBG-Werte, sondern stark erniedrigte. Der Grund ist vielleicht in der TBPA-Verminderung bei Hyperthyreosen zu suchen (INGBAR 1960a), denn bei Puffern mit einer Ionenstärke bis $\mu = 0,1$ soll Präalbumin in der Inter- α -Fraktion mitwandern (TATA 1959).

Es muß darauf hingewiesen werden, daß die elektrophoretischen bestimmten Werte der Bindungskapazität von TBG nicht als Absolutwerte angesehen werden dürfen. Sie wurden im nichtphysiologischen Milieu bestimmt und sind von der Zusammensetzung, der Ionenstärke und dem pH -Wert des Puffers abhängig (INGBAR 1960b; HAMOLSKY et al. 1960 und 1961).

Anlagerung von Schilddrüsenhormonen an die Erythrozyten im Plasma

Wie wir in den Abbildungen 7a und 7b zeigen konnten, gehorcht die T_3 -Aufnahme der Erythrozyten im Plasma der Adsorptionsgleichung von FREUNDLICH; die T_3 -Anlagerung ist also auch hier ein Adsorptionsvorgang.

Gibt man zu den in Kochsalzlösung suspendierten Erythrozyten nach der Inkubation mit T_3 - J^{131} verschieden große Plasmamengen oder isolierte Plasmaproteine mit unterschiedlicher T_4 -Affinität zu, so nimmt die Menge des den Erythrozyten angelagerten T_3 ab. Der T_3 -Verlust der zellulären Phase steigt mit der T_4 -Affinität und -Kapazität des Suspensionsmediums (INGBAR 1960b). - Da sich die Proteinaffinität und -Kapazität T_3 gegenüber ähnlich verhält wie zu T_4 , kann man annehmen, daß zwischen den beiden Phasen ein Verteilungsgleichgewicht für T_3 besteht.

Im Blut sind es im wesentlichen folgende Komponenten, die das Verteilungsgleichgewicht des zugegebenen Radiotrijodthyronin bestimmen:

- a) das Verhältnis der $T_3(T_4)$ -Affinität der Erythrozyten und des TBG
- b) die Menge des endogenen $T_3(T_4)$
- c) die TBG-Bindungskapazität für $T_3(T_4)$
- d) die Adsorption von Plasmaproteinen an der Erythrozytenoberfläche.

Die genannten Punkte sollen im folgenden besprochen werden:

zu a) Bedeutung der unterschiedlichen T_3 (T_4)-Affinität der Erythrozyten und des TBG für die * T_3 -E.A.: Nach der Erhöhung der T_3 - bzw. T_4 -Plasmakonzentration durch stabile Hormone beobachteten wir bei Thyroxin einen stärkeren Anstieg der T_3 - J^{131} -Aufnahme der Erythrozyten (Abb.13). Dieser Befund ist im wesentlichen auf die 3 mal höhere TBG-Affinität zu T_4 gegenüber T_3 zurückzuführen: Durch die T_4 -Vermehrung an TBG wird das radioaktive T_3 schneller verdrängt als durch T_3 - J^{127} .

Die 6,7 mal höhere T_3 - J^{131} -Erythrozytenaufnahme im Vergleich zur Aufnahme von T_4 - J^{131} (Tab.10) ist das Resultat von zwei Faktoren: der geringeren T_3 -TBG-Affinität und der größeren T_3 -Erythrozyten-Affinität.

zu b) Bedeutung exogener Schilddrüsenhormone für die * T_3 -E.A.: Aus den Abbildungen 3 und 14 ist abzulesen, daß die * T_3 -E.A. der Hormonkonzentration im Plasma (KT_3 bzw. T_4 (Plasma)) proportional ist, solange die Hormonbindungskapazität nicht überschritten wird. - Für diesen Konzentrationsbereich gelten folgende Beziehungen:

$$(I) \quad \% *T_3\text{-E.A.} \sim KT_3(\text{Plasma}) \quad (\text{Abb.3})$$

$$(II) \quad \% *T_3\text{-E.A.} \sim KT_4(\text{Plasma}) \quad (\text{Abb.14})$$

Eine Konzentrationserhöhung durch Zugabe von stabilem T_3 zum Plasma verändert die * T_3 -E.A. auf zweierlei Weise: Es steigert die Aufnahme der Erythrozyten durch Verdrängung des zugesetzten T_3 - J^{131} im Plasma. Gleichzeitig aber sinkt die prozentuale T_3 - J^{131} -Aufnahme mit abnehmender spezifischer Aktivität (Abb.3 A). T_3 - J^{131} wird, wie aus Abbildung 3 B hervorgeht, in dem dargestellten Konzentrationsbereich nicht von T_3 - J^{127} am

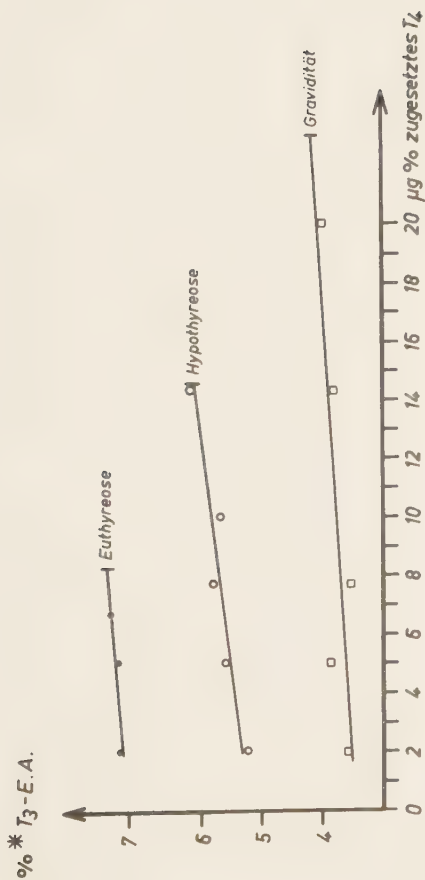


Abb. 14 Gesonderte Darstellung der flachverlaufenden Kurvenabschnitte aus Abbildung 11. Lineare Zunahme der $*T_3$ -E.A. mit steigender T_4 -Plasmakonzentration bis zur Absättigung von TBG

Erythrozyten verdrängt, denn die aus der prozentualen $*T_3$ -E.A. errechnete absolute Aufnahme wurde durch stabiles T_3 nicht reduziert.

Im venösen Blut werden auch bei schweren Hyperthyreosen im allgemeinen nie Werte über $2 \mu g\%$ T_3 gefunden. Eine solche Menge würde einen Anstieg der $*T_3$ -E.A. von etwa 3 % bewirken (Tab.2). Das endogene Trijodthyronin verändert also die prozentuale $*T_3$ -E.A. praktisch nicht.

In Abbildung 14 wurden die flach verlaufenden Kurvenabschnitte von Abbildung 11 isoliert dargestellt. Das Abbrechen der Kurven bei einer bestimmten T_4 -Menge im Plasma bedeutet, daß an diesem Punkt die TBG-Kapazität durch T_4 abgesättigt ist (s.unten). Dieser in vitro erzeugte Zustand kommt sonst - wie noch gezeigt wird - nur bei schweren Hyperthyreosen vor.

Bei der dargestellten Hypothyreose (Abb.14) wurde durch die in vitro-Zugabe von Thyroxin etwa der gesamte bei Schilddrüsenerkrankungen vorkommende T_4 -Sättigungsbereich von TBG durchlaufen. Die bei der Sättigungskonzentration gemessene $*T_3$ -E.A. lag 12 % über dem Aufnahmewert der geringsten T_4 -Konzentration. Ein solches Verhalten bedeutet, daß der für die Schilddrüsenfunktionsdiagnostik in Betracht kommende Variationsbereich des Thyroxin-Spiegels im Plasma - der als PBI bzw. BEI gemessen wird - die % $*T_3$ -E.A. praktisch nicht beeinflusst.

Die $*T_3$ -E.A. ist also kein Maß für den frei dissoziierten Anteil endogener Hormone im Plasma, der - wie eingangs dargelegt wurde - bei pathologischen Veränderungen des Schilddrüsenhormonhaushaltes eine große Bedeutung hat. - Diese Tatsache wird auch durch Bestimmungen der $*T_3$ -E.A.

nach Applikation von T_3 (T_4) veranschaulicht. Nach Verabreichung der Hormone war kein sicherer Anstieg der $*T_3$ -Aufnahmewerte festzustellen, obwohl die Patienten schon deutliche hyperthyreote Symptome zeigten (HAMOLSKY et al. 1957; URELES & MURRAY 1959; FINK 1962).

zu c) Bedeutung der TBG-Bindungs-kapazität für die $*T_3$ -E.A.: Oben beschrieben wir die Schwierigkeiten mittels Elektrophorese Aussagen über die TBG-Bindungskapazität zu machen. - Durch die Messung der $*T_3$ -E.A. bei verschiedenen T_4 -Plasmakonzentrationen konnten wir die latente TBG-Bindungskapazität unter weitgehender Wahrung der physiologischen Verhältnisse bestimmen (vor kurzem berichteten WALFISH et al. (1962) über ähnliche Untersuchungen). - Die Thyroxinzugabe zum Plasma hatte die Verlagerung von Radio-Trijodthyronin von der TBG-Fraktion an Proteine geringerer Affinität zur Folge. War die maximale Hormonkonzentration an TBG erreicht ($K_{max} T_3(T_4)(TBG)$), so nahm nach dem Ausfall dieser Anlagerungsmöglichkeit die Hormonkonzentration der übrigen Proteinfractionen im Vergleich zur Hormonzugabe schneller zu. Parallel dazu verlief die Verdrängung von T_3 - J^{131} . - Die geschilderten Veränderungen der Anlagerungsverhältnisse im Plasma bedeuteten im Blut eine Verschiebung des Gleichgewichts von T_3 - J^{131} zugunsten der Erythrozyten, was deren T_3 - J^{131} -Aufnahme widerspiegelte, wie Abbildung 11 zu entnehmen ist. - Die dargestellten Kurven zerfallen in zwei Kurvenabschnitte: einen flach verlaufenden, welcher ziemlich unvermittelt in einen steiler ansteigenden übergeht, der bei hohen T_4 -Konzentrationen ($> 1000 \mu g\%$ T_4) ein Plateau erreicht. An der knickartigen Übergangsstelle wurde die maximale T_4 -Konzentration an TBG erreicht. - Die zur Sättigungskonzentration benötigte T_4 -Menge bezeichneten wir als die "latente" TBG-Bindungskapazität für T_4 . Parallel

zu dieser Größe verhält sich die latente TBG-Bindungskapazität zu T_3 (Abb.13). Letztere ist aber durch die geringere T_3 -Affinität des Plasmas nur unsicher darzustellen, weshalb wir uns auf die Messung der latenten T_4 -Bindungskapazität von TBG beschränkten. Diese Größe bezeichnen wir der Einfachheit halber als latente TBG-Kapazität.

Zu den Meßwerten der untersuchten Patienten im einzelnen: Die latente TBG-Kapazität des euthyreoten Spenders - dessen elektrophoretisch bestimmte TBG-Kapazität bei $22 \mu\text{g}\% T_4$ lag - betrug $8,2 \mu\text{g}\% T_4$ und war damit etwa 2,8 mal kleiner. Im Blut der Graviden fanden wir den höchsten Wert (etwa $25 \mu\text{g}\% T_4$); auch bei der untersuchten hypothyreoten Patientin war die Kapazität mit $14,3 \mu\text{g}\% T_4$ erhöht; der Nephrosekranke dagegen hatte eine reduzierte latente TBG-Kapazität ($4,5 \mu\text{g}\% T_4$). Bei der hyperthyreoten Patientin konnte der flach verlaufende Kurvenabschnitt nicht dargestellt werden (Abb.11); es ist möglich, daß hier TBG durch endogenes Thyroxin abgesättigt war.

Die latente Kapazität von TBG ist gleich der Differenz des PBI-Wertes der Sättigungskonzentration (PBI_{max}) und dem PBI des Patienten (PBI):

$$(\alpha) \quad \text{latente TBG-Kapazität} = \text{PBI}_{\text{max}} - \text{PBI}$$

PBI_{max} ist der TBG-Bindungskapazität (TBG) proportional. Es gilt daher: $\text{PBI}_{\text{max}} \sim \text{TBG}$

$$(\beta) \quad \text{PBI}_{\text{max}} = k_1 \cdot \text{TBG}$$

(β) in (α) eingesetzt ergibt:

$$\text{latente TBG-Kapazität} \sim k_1 \cdot \text{TBG} - \text{PBI}$$

Die $\% T_3$ -E.A. - zum Reziprokwert der latenten TBG-Bindungskapazität in Beziehung gesetzt - ergab eine Gerade (Abb.12 B). In dem dargestellten Bereich gilt also:

$$(III) \quad \% *T_3\text{-E.A.} \sim \frac{1}{\text{lat. TBG-Kapazität}}$$

oder

$$\% *T_3\text{-E.A.} \sim \frac{1}{k_1 \cdot \text{TBG} - \text{PBI}}$$

zu d) Bedeutung der Plasma-proteinadsorption für die $*T_3\text{-E.A.}$: Den Untersuchungen von KLEINE (1961) ist zu entnehmen, daß die Erythrozyten bei einem Hämatokrit von 43 etwa 18 % der Plasmaproteine anlagern. Um den Erythrozyten ist also eine Schicht höherer Proteinkonzentration als im übrigen Plasma lokalisiert.

Für die $*T_3\text{-E.A.}$ ist das Verhalten von TBG bei der Proteinadsorption an der Erythrozytenoberfläche bedeutungsvoll. Zur Klärung dieser Frage führten wir nach der Inkubation des Blutes mit $*T_3$ Radioaktivitätsmessungen im Plasma und an den gewaschenen Erythrozyten durch. - Durch die Inkubation waren dem Plasma euthyreoter Patienten ($n=4$) bei einem mittleren Hämatokrit von 38,9 im Durchschnitt 20 % der zugegebenen T_3 -Menge verloren gegangen (Tab.4). Diesen Wert bezeichneten wir als "Plasmadefizit"; er umfaßt das in den Proteinhüllen befindliche und das an die Erythrozyten angelagerte T_3 . Bei der Waschung gingen 70 % hiervon verloren, 30 % hafteten nicht abwaschbar den Erythrozyten an. - Da sich nur ein geringer Teil des an die Erythrozyten ohne Plasmahülle angelagerten T_3 durch die Waschung entfernen ließ, mußte der gemessene Waschverlust von 70 % durch in die Hülle eingelagertes T_3 bedingt sein. Daraus kann gefolgert werden, daß auch TBG ähnlich wie andere Plasmaproteine an der Erythrozytenoberfläche adsorbiert wird.

Die TBG-Konzentrierung an der Erythrozytenmembran führt zu einer Verschiebung des T_3 -Gleichgewichts

zugunsten der Hülle. Die in die Hülle eingelager-
te T_3 -Menge ($T_3(\text{Hülle})$) ist etwa proportional der
hier vorliegenden TBG-Bindungskapazität, die wie-
derum vom TBG-Spiegel des Blutes abhängt. Wenn
wir annehmen, daß im Variationsbereich des TBG-
Spiegels sich dessen prozentuale Anlagerung an
den Erythrozyten nicht wesentlich ändert, dann
gilt die folgende Beziehung:

$$(IV) \quad T_3\text{-J}^{131}(\text{Hülle}) \sim$$

TBG-Bindungskapazität der Hülle $\sim$

TBG-Bindungskapazität im Plasma

Die Gleichgewichtsverlagerung von Radio-Trijod-
thyronin durch die Proteinadsorption konnten wir
in zwei Versuchen darstellen: Durch die Messung
der Anlagerungsverhältnisse bei erhöhtem TBG-
Spiegel. - Im Blut einer graviden Patientin be-
trug der Waschverlust etwa 80 % des Plasmadefi-
zits (Tab.5b). Den Erythrozyten wurde also allein
auf Grund der Proteinadsorption 10 % weniger T_3
angelagert als bei Normalpersonen.

Der Einfluß der TBG-Konzentrierung um den Erythro-
zyten wurde durch Absättigung der TBG-Bindungs-
kapazität mit T_3 ausgeschaltet. - Die Adsorptions-
isothermen der T_3 -E.A. wiesen Stufen auf (Abb.7a
und 7b). Bei einer bestimmten T_3 -Konzentration im
Plasma nahm also der den Erythrozyten angelagerte
Anteil des Plasmadefizits zu, während der abwasch-
bare kleiner wurde. Die Verschiebung des Vertei-
lungsgleichgewichts ist nur durch den Ausfall der
Anlagerung an eine Proteinfraction hoher T_3 -Affi-
nität nach deren Absättigung zu erklären. Da die
Stufe bei dem untersuchten euthyreoten Patienten
(Abb.7a) im Bereich der latenten TBG-Bindungska-
pazität lag, nehmen wir an, daß es sich hier um
die Absättigung von TBG handelte. Die Adsorptions-
isotherme der Graviden (Abb.7b) hatte ebenfalls
in diesem Konzentrationsbereich eine Stufe; zwi-

schen 100 bis 200 $\mu\text{g}\%$ T_3 wies sie jedoch eine zweite auf. Wahrscheinlich lag hier eine zweite Plasmafraktion mit hoher T_3 -Affinität vor; erst nach deren Absättigung war das Verhältnis der abwaschbaren zur nicht abwaschbaren T_3 -Menge gleich dem der Normalperson (Tab.5a und 5b). - Da aus der Literatur nicht entnommen werden kann, um welche Fraktion es sich handelt, und da wir nur bei einer graviden Patientin die Adsorptionsisotherme darstellten, soll auf den Befund nicht weiter eingegangen werden.

Die Proteinhülle um den Erythrozyten reduziert die *T_3 -E.A. außerdem durch die Hemmung der T_3 -Diffusion zum Erythrozyten. Das geht aus dem Vergleich der Diffusionsgeschwindigkeit bei Erythrozyten mit und ohne Proteinhülle hervor. Während die T_3 -Anlagerung im Blut erst nach 80 Minuten in ein Plateau überging (FINK 1962), war dieses bei gewaschenen, in Kochsalzlösung suspendierten Erythrozyten schon nach 10 Minuten erreicht (CRISPELL et al.1957).

Neben den beschriebenen Faktoren ist es denkbar, daß die adsorbierten Plasmamoleküle T_3 -Rezeptoren an den Erythrozyten besetzen, was ebenfalls zur Reduktion der *T_3 -E.A. führen würde.

Im folgenden soll kurz auf einige Versuche eingegangen werden, bei denen die den Erythrozyten angelagerte Plasmamenge verändert wurde: Nach Lagerung des Blutes fanden wir erhöhte Aufnahmewerte (Tab.1). Die Hauptursache hierfür ist die geringere Proteinadsorption gelagerter Erythrozyten (KLEINE 1961). - Ein ähnlicher Vorgang kann dem durch Heparin bewirkten Anstieg der *T_3 -E.A. zugrunde liegen (Abb.2).

Auch eine Temperaturerhöhung bewirkt eine Abnahme der adsorbierten Plasmamenge (KLEINE 1961). - Für das Zustandekommen der Kurve in Abbildung 4, welche die Abhängigkeit der

*T₃-E.A. von der Temperatur zeigt, spielen noch andere Komponenten eine Rolle. Die Diffusionsgeschwindigkeit von T₃ zum Erythrozyten wächst nicht nur mit kleiner werdender Proteinhülle, sondern ist auch $\sqrt{T}$ proportional. Die T₃-Bindung an TBG und an den Erythrozyten nimmt proportional zu $e^{-E/RT}$ ab (T = absolute Temperatur).

Die in Abbildung 6 gezeigte Desorptionsskurve läßt an eine Diffusion von T₃ in tiefer liegende Schichten des Erythrozyten denken, die sich während der Inkubation bei 37°C vollzog. Die Abkühlung auf 2°C könnte eine Engstellung der Poren an der Erythrozytenmembran bewirkt haben, so daß weniger T₃ desorbierte. Bei Temperaturen über 32°C hätte dann die Vergrößerung der Poren das Überwiegen der Anlagerung zur Folge gehabt.

Deutung der Test-Aussage

Die Zusammenfassung der Befunde ergibt folgendes Bild: Das dem Blut zugesetzte Radiotrijodthyronin verteilt sich zwischen dem Plasma und den Erythrozyten. Auf Grund der hohen T₃-Affinität von TBG wird das Verteilungsgleichgewicht im wesentlichen von dessen Spiegel im Plasma gesteuert. Der Einfluß dieser Proteinfraction wird noch verstärkt durch die TBG-Konzentrierung an der Erythrozytenoberfläche. - Da endogene Schilddrüsenhormone die *T₃-E.A. kaum verändern, kann die Beziehung (III) vereinfacht werden. Für die bei Patientenuntersuchungen gewonnenen Meßergebnisse gilt demnach:

$$(V) \quad \% *T_3\text{-E.A.} \sim \frac{1}{\text{TBG-Bindungskapazität}}$$

Somit ist die % *T₃-E.A. ein Maß für den TBG-Spiegel im Plasma.

Voraussetzung für die Brauchbarkeit der Aussage zur Schilddrüsenfunktionsdiagnostik ist allerdings, daß die Proteinadsorption der Erythrozyten nicht größeren individuellen Schwankungen unterworfen ist. Die heute vorliegenden Befunde erlauben keine Antwort auf die Frage, ob diese Prämisse wirklich erfüllt ist.

III. PATIENTENUNTERSUCHUNGEN

1. Ergebnisse

Bevor wir zu den eigentlichen Patientenuntersuchungen übergehen konnten, mußten noch 2 Punkte abgeklärt werden: die individuelle Schwankungsbreite der $*T_3$ -E.A. und die Frage der Beurteilung der bei verschiedenem Hämatokrit gemessenen Aufnahme-Werte.

a) Individuelle Schwankungsbreite der $*T_3$ -E.A.

Bei 4 Normalpersonen verfolgten wir in einem Zeitraum von 1 - 2 Wochen die $*T_3$ -E.A. Im Mittel schwankten die Werte bis maximal 10,5 % über und 8 % unter den Mittelwert (Hämatokritveränderungen wurden nach der Methode von HAMOLSKY normiert).

Tab.11 Individuelle Schwankungsbreite der $*T_3$ -E.A.

Geschlecht	Zeitintervall (Tage)	Anzahl der Messungen	maximale Schwankung in % des Mittelwertes	
			darüber	darunter
m.	10	5	12,5	5,0
m.	14	6	9,9	16,2
f.	14	4	4,4	7,9
f.	10	4	15,0	7,0
			M = 10,5	M = 8,0

b) Abhängigkeit der $*T_3$ -E.A. vom Hämatokrit

Die in Abbildung 15 A wiedergegebenen Kurven erhielten wir durch Einstellen der Hämatokritwerte. Die Kurven der verschiedenen Patienten stellen

den Ausschnitt eines Kurvenbündels dar, dessen Knoten bei $H_k = 0$ (kein zelluläres Adsorbens) und $H_k = 100$ (kein Plasmaeinfluß) liegen. Die Kurvenscheitel verlagern sich mit abnehmender TBG-Kapazität zu kleineren H_k - und größeren $*T_3$ -E.A.-Werten.

Da die in der Literatur angegebenen Möglichkeiten zur Normierung der bei verschiedenen Hämatokritwerten gemessenen $*T_3$ -E.A. unbefriedigend sind (s. Diskussion), gingen wir dazu über, hämatokritabhängige Normalbereiche festzulegen. Dazu wurden bei je 5 gesunden Männern und Frauen die $*T_3$ -Aufnahmewerte mit verschiedenen Hämatokriteinstellungen bestimmt. Die doppelte Standardabweichung begrenzte die Flächen für Schilddrüsengesunde beiderlei Geschlechts (Abb. 16, Einzelwerte unter E I 3). Werte, die außerhalb lagen, beschrieben wir in den Tabellen mit $\pm$ dem Prozentanteil des zu dem jeweiligen Hämatokrit gehörigen oberen oder unteren Grenzwertes des Normalbereiches.

c) Patientenuntersuchungen

Die $*T_3$ -E.A. wurde immer am Tage des zum Vergleich herangezogenen Radiojodtests bestimmt. Bei schilddrüsentherapierten Patienten wurde die $*T_3$ -E.A. zum Zeitpunkt des angegebenen Tests "nach Therapie" gemessen.

α) Patienten mit übereinstimmender klinischer- und Radiojodtest-Diagnose

Euthyreosen: Das Alter der untersuchten 40 Fälle lag zwischen 15 und 68 Jahren. Sie litten nicht an Nieren-, Leber-, Herz- oder Lungenkrankheiten mit CO_2 -Retention und hatten bis mindestens 1/2 Jahr vor dem Test außer sedierenden Mitteln keine Medikamente eingenommen. 37 Patienten stammten

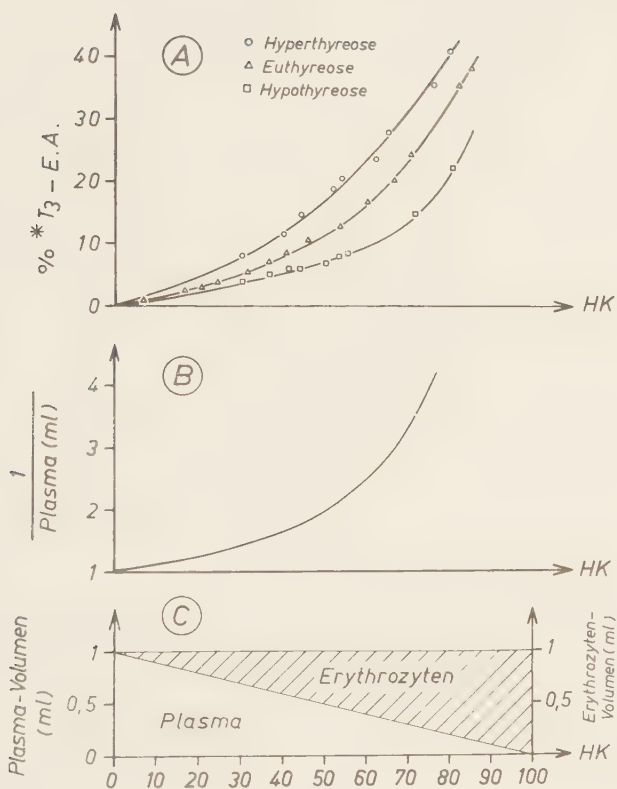


Abb.15 A. Abhängigkeit der $*T_3$ -E.A. vom Hämatokrit bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen

B. Abhängigkeit des Reziprokwertes der Plasmakonzentration vom Hämatokrit

C. Abhängigkeit der Erythrozytenmenge vom Hämatokrit

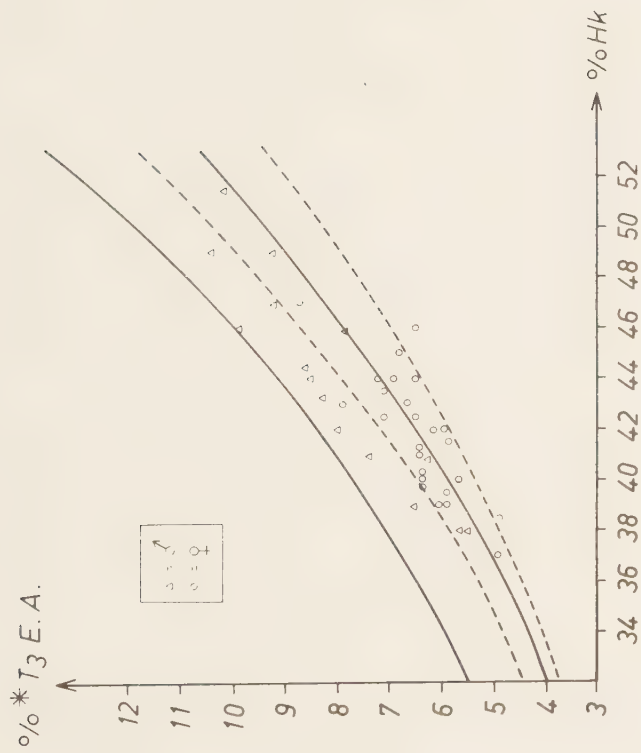


Abb. 16 *T₃-E.A. von Patienten, deren klinisches Bild und Radiojodtest übereinstimmend die Diagnose Euthyrose ergab

aus dem Jodmangelgebiet, 19 davon waren Träger einer Jodmangel-Struma.

Die Eintragung der Untersuchungsergebnisse zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem festgelegten Normalbereich (Abb.16). Lediglich 3 von 25 untersuchten Frauen lagen außerhalb; davon eine im hyper- und zwei im hypothyreoten Bereich. - Jodmangel, Jodmangel-Struma, vegetative Störungen und Alter hatten keinen Einfluß auf die $*T_3$ -E.A.

Klinisch euthyreote Patienten mit Jodmangel-Struma und Radiojodtest-Veränderungen: Im endemischen Jodmangel-Gebiet findet man zuweilen bei klinisch euthyreoten Patienten im Radiojodtest außer der erhöhten Jodavidität der Drüse einen beschleunigten intrathyreoidalen Umsatz, der oft von einer erhöhten 48 h-Plasmaaktivität begleitet ist.

Wir bestimmten bei 4 klinisch euthyreoten Strumaträgern (Nr.87,89,97,102 in Tab.12) mit erhöhtem intrathyreoidalem Umsatz - 2 davon hatten außerdem erhöhte 48 h-Plasmawerte - die $*T_3$ -E.A.; sie war jedesmal erniedrigt. Bei einem fünften Fall (Nr.152) mit Grenzwerten im Radiojodtest lag die $*T_3$ -E.A. an der unteren Normgrenze.

Tab.12 Klinisch euthyreote Patienten mit Jodmangel-Struma und Radiojodtest-Veränderungen

Nr.	Geschl.	J-Speicherung			48 h Plasma Akt.	HK	$*T_3$ - E.A.	Bedeutung
		2 h	24 h	48 h				
87	f.	63,6	71,5	64,2	0,36	44	1,2	- 17,5 %
89	f.	31,2	32	40,6	0,22	45	1,2	- 21,6 %
97	m	42,6	51,3	46,4	1,11	44	1,0	- 3 %
102	m.	40,7	59,5	55,1	1,28	46	1,0	- 28,6 %
152	f.	44,1	63,5	62,5	0,44	42,5	1,9	untere Normgrenze

Tab. 13 Hypothyreote Patienten

Geschl.	Diagnose	Therapie vor	J-Speicherung			Plasma Akt. 48 h	Hk	*T ₃ - E.A.	Beurtei- lung
			2 n.	24 n.	48 h				
f.	Struma maligna	5 J.: Strumekt. J ₁₃₁ -Ther.	10,9	2,1	1,5	1,3	40	1,3	- 81,2 %
f.	Struma maligna	5 Mon.: 9 mC 3 Mon.: 10 mC	11,9	1,5	1,1	1,1	47	4,13	- 43 %
f.	Struma maligna	2 J.: Strumekt.	17,5	10,1	1,2	1,1	43,5	3,7	- 4,1 %
f.	Struma maligna	10 J.: Strumekt. 4 J.: Strumekt.	13,4	2,1	1,2	1,28	53	6,2	- 34 %
f.	Struma maligna	2 J.: 1 mC 10 Mon.: 10 mC	11,1	2,1	1,1	1,1	45	4,7	- 28,8 %
f.	Struma maligna	4 J.: Strumekt. 4 Mon.: 30 mC 2 Mon.: 108 mC	14,1	2,5	1,2	1,0	41	4,5	- 27 %
f.	Struma maligna	2 J.: Strumekt. 4 Mon.: 50 mC 2 Mon.: 100 mC	10,9	1,7	1,05	1,35	41	3,9	- 20,7 %
m.	Struma maligna	2 J.: Strumekt.	15,6	1,1	1,7	1,1	49	1,1	- 25 %
f.	Struma maligna	52 J.: Strumekt. 40 J.: Strumekt.	33,3	38,1	27,4	1,9	41	1,2	- 21,1 %
f.	Struma maligna	3 Mon.: Strumekt.	21,4	17,2	11,9	2,2	41	5,3	- 19,7 %
f.	genuine Hypothyreose	--	14,9	9,7	7,0	1,1	30,0	3,78	- 16,9 %
m.	genuine Hypothyreose	--	13,2	7,4	4,98	1,12	37,0	4,3	- 16,5 %
f.	Struma maligna	2 J.: Strumekt. J ₁₃₁ -Rö-Ther.	14,3	14	11,4	0,96	43	5,3	- 12,4 %
f.	Struma maligna	14 Mon.: 100 mC 12 Mon.: 100 mC 8 Mon.: 100 mC	14,8	9,7	5,7	1,8	32	3,3	- 9,5 %

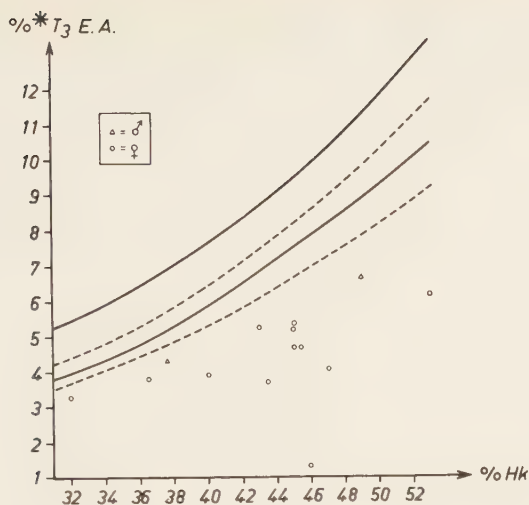


Abb.17 $*T_3$ -E.A. von Patienten, deren klinisches Bild und Radiojodtest übereinstimmend die Diagnose Hypothyreose ergab

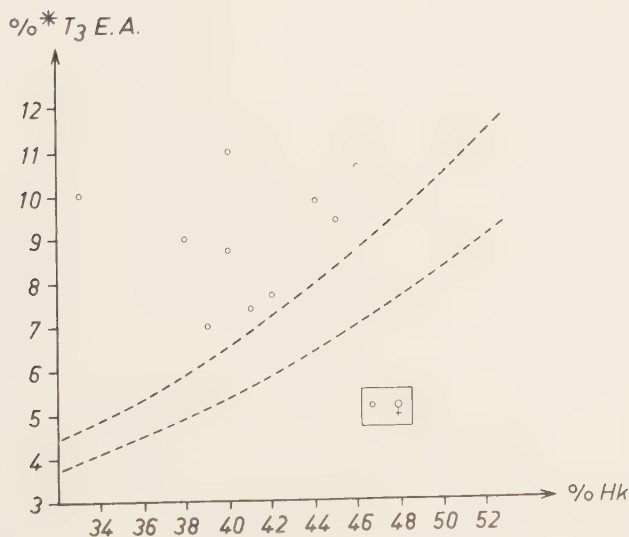


Abb.18 $*T_3$ -E.A. von Patienten, deren klinisches Bild und Radiojodtest übereinstimmend die Diagnose Hyperthyreose ergab

Tab.14 Hyperthyreote Patienten, geordnet nach dem Schweregrad des Krankheitsbildes

Nr.	Geschl.	klin. Bild	Therapie vor	J-Speicherung			Plasma Akt. 48 h	Hk	%T ₃ -E.A.	Beurteilung
				2 h	24 h	48 h				
13	f.	schwere Hyperthyreose	--	72,5	64,6	59,2	2,32	33		2.8
21	f.	schwere Hyperthyreose	--	81,6	61,6	53,6	2,66	4	11,5	8
47	f.	schwere Hyperthyreose	--	94,5	83,3	101,7	1,56	38		64,5
116	f.	deutliche Hyperthyreose	2 Mon.: 10,3 mC	43,1	65,5	61,5	0,9	4	8,1	3
53	f.	leichte Hyperthyreose	1 Mon.: 1,5 mC 2 Mon.: 1,5 mC	73,5	64,4		1,25	44	9,5	2
69	f.	deutliche Hyperthyreose	--	71,9	84,6	84,3	1,8	40	10,6	22
20	f.	leichte Hyperthyreose	--	43	63	64,4	0,30	4	9,4	14
137	f.	leichte Hyperthyreose	--	6,4	64,4	68,5	3,11	39		14
61	f.	klinisch nicht sicher hyperthyreot	--	66,1	81,5	77,8	2,42	42	7,8	8
45	f.	Vegetat. Störung, nicht sicher abzugrenzen geg. Hyperthyreose	--	64,2	86,5	88,5	1,48	43	7,7	3
10	f.	Verdacht auf Hyperthyreose	12 Mon.: 8,1 mC 2 Mon.: 8,7 mC	82,7	77,7	69,4	4,48	38		3
13	f.	Verdacht auf Hyperthyreose	3 Mon.: 9 mC	74,5	62,9	47,2	0,82	44	7,9	1

Hypothyreosen: Es standen uns 14 Patienten zur Verfügung, die klinisch und im Radiojodtest eine Schilddrüsenunterfunktion zeigten. Außer 2 Fällen von genuinem Myxoedem, handelte es sich um maligne Strumen nach Strumektomie und Radiojodtherapie mit Tumordosen. Zum Zeitpunkt des Tests waren szintigraphisch keine jodspeichernden Metastasen nachweisbar; die Trijodthyronin-Substitutionstherapie wurde 10-14 Tage vor dem Test abgesetzt. Die Werte der $*T_3$ -E.A. waren eindeutig erniedrigt (Abb.17). - Quantitative Zusammenhänge zwischen den pathologischen Veränderungen im Radiojodtest und der Erniedrigung der $*T_3$ -Aufnahme konnten wir nicht feststellen (Tab.13).

Hyperthyreosen: Bei allen 10 untersuchten Patienten stimmte die erhöhte $*T_3$ -E.A. mit dem klinischen Bild und dem Radiojodtest überein (Abb.18). Außer 2 Patientinnen, die 2 bzw. 5 Monate vorher die erste therapeutische Radiojod-Dosis erhalten hatten, waren die übrigen unbehandelt.

Aus Tabelle 14 ist ersichtlich, daß zwischen dem Grad der $*T_3$ -Aufnahmesteigerung, dem klinischen Bild und dem Radiojodtest eine gewisse Korrelation besteht. - Die Patienten Nr.19 und 63 waren klinisch nicht als Hyperthyreose zu diagnostizieren; sie sind deshalb in Abbildung 18 nicht enthalten.

5. Patienten nach Radiojodtherapie der Strumektomie

Patienten nach Markierungs- oder Verabreichungstherapie einer euthyreoten Jodmangel-Struma: Bei den in Tabelle 15 aufgeführten Patienten lag die letzte Radiojodtherapie nicht länger als 8 Monate zurück. Klinisch ergab sich kein Anhalt für eine Schilddrüsenfunktionsstörung im Sinne einer Über- oder Unterfunktion.

Tab. 15 Patienten nach Verkleinerungs-Therapie einer euthyreoten Jodmangel-Struma

a) Klinisch euthyreot; letzte Therapie lag nicht länger als 8 Monate zurück

Nr.	Geschl.	Therapie vor	Radiojodtest										Hk	%T ₃ -E.A.	Beurteilung	
			vor Therapie		Plasma		J-Speicherung		nach Therapie		Plasma					
			2 h	24 h	48 h	AKT, 48 h	2 h	24 h	48 h	AKT, 48 h	2 h	24 h	48 h			
6	f.	13 Mon.: 7 mC 3 Mon.: 10,8 mC	52,8	73	73,7	0,13	25,6	44,5	43,2	0,21			45	6,1	- 8 %	
15	f.	5 Mon.: 15 mC 2 Mon.: 16,5 mC	33,6	62,4	68,3	0,02	3,1	60,9	61,7	0,34			47	4,9	- 32,4 %	
49	f.	3 Mon.: 16,7 mC	69,91	74,99	79,81	0,15	53,2	79,3	77	0,43			40	4,3	- 19,4 %	
54	f.	4 Mon.: 23,5 mC	24,2	42,1	42,3	0,02	46,4	50,5	32,5	0,35			45	5,2	- 21 %	
55	f.	16 Mon.: 21 mC 11 Mon.: 21 mC 2 Mon.: 20,9 mC 4 Mon.: 19 mC	44,03	40		0,22	40,3	24	19,8	0,235			40	3,9	- 26,6 %	
62	f.	3 Mon.: 12,8 mC	56,1	76,2	71,6	0,71	48,1	68,7	65,8	0,77			39	5,6	normal	
72	m	4 Mon.: 11 mC	45,7	64,3	65,3	0,166	24,9	55,6	60,7	0,44			43	5,3	- 22 %	
82	f.	4 Mon.: 10,3 mC	82	92	77	0,42	83,8	85	85,9	0,6			41,5	4,8	- 15,7 %	
88	f.	2 Mon.: 9 mC	48,3	70,2	72,2	0,45	24	27,5	23,1	1,61			38	5,4	normal	
92	f.	3 Mon.: 14,8 mC	48	69	66,2	0,11	16,5	21,8	19,7	0,42			45	6,1	- 7,6 %	
100	m.	41 Mon.: Strumekt 2 Mon.: 17 mC	30,9	48,7	50,3	0,08	19,1	33,2	23,3	0,22			46	6,3	- 19,6 %	
109	f.	34 Mon.: Strumekt 2 Mon.: 17 mC	45,6	71,9	71,3	0,10	40,4	63,8	62,8	0,11			42,5	5,5	- 7 %	
113	f.	19 Mon.: Strumekt 4 Mon.: 17,5 mC	37,6	59,4	57,9	0,33	27,9	50,9	56	0,44			44	5,85	- 7,4 %	
117	m.	2 Mon.: 20,5 mC	25,8	46,2	50,4	0,3	24,8	39,4	36,2	0,65			50	7,9	- 15,2 %	
147	f.	8 Mon.: 11,3 mC	68,9	80,3	80,6	0,3	52,05	73,44	72,02	0,88			44	5,67	- 10 %	

(Tab.15) b) Klinisch euthyreot; Auftreten einer Rezidiv-Struma; letzte Therapie lag Jahre zurück

Nr.	Geschl.	Therapie vor:	J-Speicherung			Plasma Akt. 48 h	Hk	%T ₃ -E.A.	Beurteilung
			2 h	24 h	48 h				
2	m.	19 J.	72,5	79	81	0,65	42	2,5	- 14,6 %
24	f.	5 J.	64,8			0,39	44	7,7	normal
65	f.	13 J.	30,4	46,7	47,6	0,79	43	7,2	normal
101	f.	4 J.	73,6	79,1	71,6	0,74	32,5	4,2	normal
108	f.	21 J.	42,2	67,8	72,6	0,1	39,5	5,45	normal
145	f.	18 J. 19 J.	25,57	42,3	44,34	0,00	39	4,76	- 6,6 %
150	m.	20 J. 27 J.	52,05	69,71	66,58	0,64	46	5,5	- 17,2 %

13 der 15 Fälle hatten eine unter der Norm liegende *T₃-E.A. - Die Zahl der Untersuchungen ist zu gering, um Aussagen über Beziehungen der *T₃-E.A. zu den Werten des Radiojodtests machen zu können.

In Tabelle 15b sind Patienten zusammengefaßt, die vor längerer Zeit strumektomiert wurden. Nach dem klinischen Status, wie auch nach dem Radiojodtest, waren diese Patienten euthyreot. Inzwischen war ein Strumarezidiv aufgetreten.

4 der 7 Patienten zeigten eine normale *T₃-E.A.; bei den übrigen war diese unter die Norm gesenkt.

Therapierte hyperthyreote Patienten (Tab.16): Die *T₃-E.A. der Patienten Nr.116 und 53 lagen mit + 35 % bzw. + 25 % deutlich über der Norm. Klinisch waren noch deutlich hyperthyreote Symptome vorhanden; die erhöhte Schilddrüsenaktivität bestätigte der Radiojodtest. - Auch bei den Patienten Nr. 19 und 63 stimmte die wenig über die Norm erhöhte *T₃-E.A. überein mit dem klinisch noch

Tab. 16 Therapierte hyperthyreote Patienten

Nr.	klinisches Bild	Therapie vor	Radiojodtest						HK	%T ₃ -E.A.	Beurteilung		
			vor Therapie			nach Therapie							
Geschl.			J-Speicherung 2 h 24 h 48 h	Plasma Akt. 48 h	J-Speicherung 2 h 24 h 48 h	Plasma Akt. 48 h							
116 f.	deutliche Hyperthyreose	2 Mon.: 10,3mC	48,3	73,6	72,3	0,83	43,1	65,5	61,5	0,9	40	8,7	+ 35 %
113 f.	leichte Hyperthyreose	5 Mon.: 9 mC 3 Mon.: 7,4mC	62,7	79,1	73,2	0,02	73,5	74,4	50	1,25	44	9,8	+ 25 %
119 f.	Verdacht auf Hyperthyreose	12 Mon.: 8,1mC 2 Mon.: 8,7mC	92,5	93,5	91,4	1,99	82,7	77,7	69,4	4,48	38	6	+ 3 %
163 f.	Verdacht auf Hyperthyreose	3 Mon.: 9 mC	74,7	62,9	47,2	0,83	74,5	62,9	47,2	0,83	44	7,9	+ 1 %
85 f.	Euthyreose	13 Mon.: 5 mC 11 Mon.: 5 mC 3 Mon.: 12,8mC	55,7	76	63	3,07	21,6	22,1	17,4	1,35	42	4,5	- 22 %
117 f.	Euthyreose	2 Mon.: 5,2mC	73,5	86,9	79,2	0,425	21,4	18	16,1	1,32	45	4,3	- 35 %

nicht eindeutig euthyreoten Bild und dem Radiojodtest mit erhöhten Speicherungswerten und gesteigertem intrathyreoidalem Umsatz. Die Patienten Nr. 85 und 117 hatten keine Zeichen einer Dysfunktion der Drüse, doch waren die Jodspeicherungswerte gesenkt, die $*T_3$ -E.A. lag unter der Norm.

γ) Patienten mit Strumitis (Tab.17)

Die Untersuchung einer Patientin mit Strumitis (Nr.69) nach 4-wöchiger Vorbehandlung mit Decortin (2 mal 5 mg tägl.) ergab klinisch und im Radiojodtest das Bild einer Hyperthyreose. Zu diesem Zeitpunkt lag die $*T_3$ -E.A. 22,5 % über der oberen Normgrenze. Die Decortinbehandlung wurde 5 Wochen nach dem Test abgesetzt. - 5 Monate später kam die Patientin zur Kontrolluntersuchung. Jetzt waren klinischer Befund, Radiojodtest und $*T_3$ -E.A. übereinstimmend normal.

Die Patientin Nr.9 zeigte das klinische Bild einer Strumitis; Radiojodtest und Szintigramm ließen eine Struma maligna vermuten, die nach der Exstirpation histologisch gesichert wurde. Der PBI¹³¹-Wert lag im hypothyreoten Bereich; chromatographisch waren keine Hormone nachweisbar. Die $*T_3$ -E.A. lag 38 % unter der unteren Normgrenze.

Tab.17 Patienten mit Strumitis

Nr.	Sex	J - Speicherung			Plasma Akt. 48 h	Hk	$*T_3$ -E.A.	Beurteilung
		2 h	24 h	48 h				
vor Therapie 69	f.	71,9	84,6	84,3	1,08	46	10,6	+ 22,5 %
nach Therapie 69	f.	36,4	55,5	53,1	0,37	40,8	6	normal
9	f.	22,5	29,5	30,6	0,13	44	3,9	- 38 %
PBI ¹³¹ im hypothyreoten Bereich; chromatographisch keine Hormone nachweisbar								

6) Extrathyreoidale Beeinflussung der $*T_3$ -E.A.

Einfluß der Hypophyse auf die $*T_3$ -E.A.: Zur Untersuchung kamen 2 Fälle mit Hypophysentumor (Tab.18, Nr.3 und Nr.79) und 2 Patienten nach totaler bzw. partieller Hypophysektomie. - Die deutlich gesenkten Werte der $*T_3$ -E.A. standen im Gegensatz zu den bei 3 Fällen durchgeführten Radiojodtesten, die keine Unterfunktion der Drüse erkennen ließen. Der reduzierte Grundumsatz (- 33 %) bei Patient Nr.60 stimmte mit der erniedrigten $*T_3$ -E.A. überein.

Tab.18 Funktionsstörungen der Hypophyse

Nr.	Geschl.	Diagnose - Therapie	J - Speicherung			Plasma Akt. 48 h	Hk	% $*T_3$ - E.A.	Beurteilung
			2 h	24 h	48 h				
3	f.	primäre Hypothyreose	52,6	79,4	83,1	0,32	35	3,5	- 17,6 %
60	m.	Zustand nach Hypophysektomie	Grundumsatz: - 33				41	5	- 18,6 %
66	f.	Transthymoidale partielle Hypophysektomie mit Radio-Gold	42,6	74,2	68,3	0,55	45	5,7	- 13,6 %
79	f.	Hypophysen-Tumor Akromegalie Amenorrhoe	26,9	55,6	59,2	0,11	40,5	4,9	- 10 %

An schilddrüsengesunden Normalpersonen untersuchen wir den Einfluß von Thyreoidea stimulierendem Hormon und adrenokortikotropem Hormon auf die $*T_3$ -E.A.:

Wir injizierten 2 Versuchspersonen im Abstand von 22 Stunden 2 mal 500 Meerschweincheneinheiten (MSE) Thyreoidea stimulierendes Hormon. 2 Stunden nach der 2. Injektion konnten wir die höchste $*T_3$ -E.A. messen, die im Durchschnitt 28,8 % über dem Ausgangswert lag (Tab.19).

Tab.19 Verhalten der $*T_3$ -E.A. nach Injektion von TSH

Stunden	0	1	10	23	25	34
Injektion von Thyreotropem Hormon (MSE)		50 E		50 E		
% $*T_3$ -E.A.	Patient Nr.1	8,8	8,43		7,45	8,67
	Patient Nr.2	7,32	8,73		9,45	8,54
Anstieg in % des Ausgangswertes	Nr.1		11,5		28,5	11,5
	Nr.2		11,9		29	11,7
Mittelwert			11,5		28,8	11,6

Bei dem in gleichen Zeitabständen durchgeführten Experiment mit adrenokortikotropem Hormon (2 mal 40 E) betrug die durchschnittliche Maximalzunahme 9 % (Tab.20).

Tab.20 Verhalten der $*T_3$ -E.A. nach Injektion von ACTH

Stunden	0	1	1	23	25	34
Injektion von Adrenokortikotropem Hormon		40 E		40 E		
% $*T_3$ -E.A.	Patient Nr.1	8,76	9,84		9,55	8,4
	Patient Nr.2	9,76	10,4		10,45	10
Anstieg in % des Ausgangswertes	Nr.1		11,25		9	- 4
	Nr.2		6,7		7	2,2
Mittelwert			9		8	- 0,9

$*T_3$ -E.A. bei Lebererkrankungen: Das untersuchte Patientenmaterial bestand aus 5 akuten Hepatitiden, einer abklingenden Hepatitis und einer Leberzirrhose (Tab.21).

Die $*T_3$ -E.A. war in gleicher Weise bei 3 Patienten mit Decortin-Vorbehandlung und 3 Patienten

ohne Decortin-Medikation gesenkt; der Wert des 7. Falls lag an der unteren Normgrenze.

Tab.21 *T₃-E.A. bei Lebererkrankungen

Nr.	Geschl.	Diagnose	Decortin - Therapie	Hk	%*T ₃ -E.A.	Beurteilung
144a	m.	akute Hepatitis	seit 15 Tagen 20 mg Decortin tägl.	46	5,5	- 30 %
144c	m.	akute Hepatitis	--	42,7	5,15	- 23 %
144d	f.	akute Hepatitis	seit 1 Tag 50 mg Decortin	40	4,8	- 10 %
114e	m.	Leber- zirrhose	seit 100 Tagen 30 mg Decortin tägl.	47	4,75	- 42 %
114g	m.	akute Hepatitis	--	44	4,35	- 39 %
144h	f.	abklingende Hepatitis	--	40	4,9	- 7,5 %
144i	m.	akute Hepatitis	seit 10 Tagen 30 mg Decortin tägl.	45	5,0	untere Norm

Da Lebererkrankungen meist mit Veränderungen der Gallensäurekonzentration des Plasmas einhergehen, prüften wir deren Einfluß auf die *T₃-E.A. - Von dem in physiologischer Kochsalzlösung gelösten Natriumcholalicum konnten wir dem Blut bis 50 mg% zugeben, ehe Hämolyse auftrat. In diesem Konzentrationsbereich änderte sich die *T₃-E.A. nicht.

Tab.22 Einfluß der Gallensaure-Plasmakonzentration auf die *T₃-E.A.

Zugesetztes Natriumcholalicum (mg%)		0,5			5,0
% *T ₃ -E.A.	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

*T₃-E.A. in der Schwangerschaft (Tab.23): Die *T₃-E.A. war bei 3 graviden Frauen und 1 Frau, die 1 Woche vor der Untersuchung geboren hatte,

gesenkt. Der Radiojodtest dieser letzten Patientin zeigte erhöhte Jodspeicherungswerte mit leicht erhöhtem intrathyreoidalem Umsatz.

Tab.23 *T₃-E.A. während und 1 Woche nach der Schwangerschaft

Nr.	Mens	Hk	%*T ₃ -E.A.	Beurteilung
93	5	38	3,5	- 28 %
130a	11	40,5	3,48	- 30 %
	4	40	5,2	- 32 %
73	1 Woche nach Partus	47	2,3	- 34 %

Radiojodtest der Pat.Nr.73:

Speicherung: 2 h 65,6 %
 24 h 84 %
 48 h 80,5 %

Plasmaaktivität: 48 h 0,33 %

Einfluß von Plasmaeiweiß-Veränderungen auf die *T₃-E.A. (Tab.24): Eine 11 % über der Normgrenze liegende *T₃-E.A. wurde bei einer Nephrose-Patientin (Nr.20) gemessen, deren Gesamt-Eiweiß auf 3,5 g% erniedrigt war. Bei einem zweiten Nephrose-Patienten (Nr.10) mit Gesamt-Eiweiß 4 g% lag die *T₃-E.A. nicht so extrem hoch. Ebenfalls über der Norm liegende Werte hatten 2 Patienten (Nr.203 und Nr.204) mit Plasmozytom und 1 Patient (Nr.205) mit Waldenström'scher Erkrankung. Bei einem Patienten (Nr.206) mit einer α_2 -Globulin-Vermehrung auf 21 % war die *T₃-E.A. etwas unter die Norm gesenkt.

Tab.24 *T₃-E.A. bei Patienten mit Plasma-
eiweiß-Veränderungen

Nr.	Geschl.	Diagnose	Hk	*T ₃ -E.A.	Beurteilung
201	f.	Nephrose Ges.Eiw. 3,5 g%	42	14	+ 97 %
202	m.	Nephrose Ges.Eiw. 6,0 g%	42	12,1	+ 45 %
203	f.	Plasmozytom	42	9,5	+ 34 %
204	f.	Plasmozytom	42	8,1	+ 14 %
205	m.	Morbus Waldenström	42	9,5	+ 14 %
206	m.	α ₂ -Globulin- Erhöhung (21 %)	42	5,76	- 11,5 %

Einfluß der Plasmalipide auf die *T₃-E.A.: Eine klinisch euthyreote Patientin mit essentieller Hyperlipämie, verbunden mit einer Globulinvermehrung zeigte im Radiojodtest eine Steigerung der Schilddrüsen-Aktivität; intrathyreoidaler Umsatz und 48 h-Plasmaaktivität waren erhöht. Die *T₃-E.A. lag 2,5 % unter der Normgrenze.

Werte der Laboruntersuchungen:

Radiojodtest:

Speicherung nach:	2 h	25,6 %
	24 h	49,2 %
	48 h	41,61 %

Plasmagesamtaktivität nach 48 h 1,01 %

Gesamt-Cholesterin: 770 mg%

Gesamt-Lipide: 7682 mg%

Elektrophorese:	G.E.:	6,2 g%	α_1	=	6 %
	Alb.:	45,0 %	α_2	=	20 %
	Glob.:	55,0 %	ϵ	=	17 %
			γ	=	12 %

Der Radiojodtest eines zweiten Patienten mit Hyperlipämie, der das Bild einer schweren Hypothyreose bot, war unauffällig (Speicherung nach 2 h 19,6 %, 24 h 52,2 %, 48 h 56 %; Plasmagesamtaktivität 0,47 %). Obwohl die TBG-Gesamtkapazität mit 10,5 $\mu\text{g}\%$ T_4 etwa auf die Hälfte der Norm herabgesetzt war, fanden wir eine etwas reduzierte (- 2 %) $*T_3$ -E.A.

Mit einem in vitro-Versuch prüften wir den Einfluß der Plasmacholesterin-Konzentration. - Dem Plasma zugesetztes Cholesterin konnte durch 5-stündiges Schütteln mit Glasperlen teilweise gelöst werden. Es wurde ein Absinken der Aufnahmewerte beobachtet.

Tab.25 Einfluß der Cholesterin-Plasmakonzentration auf die $*T_3$ -E.A.

zugesetztes Cholesterin (mg%)	0	50	100	200
% $*T_3$ -E.A.	0,1	0,2	0,47	7,59
Abfall in % des Ausgangswertes		0,1	21,5	25,1

2. Diskussion

Der Zweiphasen-Radiojodtest

Der Diagnostik der untersuchten Patienten wurde das klinische Bild und der Zweiphasen-Radiojod-

test zugrunde gelegt. Bei unklaren Fällen wurde dieser noch durch andere Laboruntersuchungen ergänzt (PBI¹³¹, chromatographische Auftrennung der J¹³¹-Aktivität im Plasma, Grundumsatz). - Da in den Tabellen die Radiojodtest-Werte angegeben wurden, sei auf deren Beurteilung kurz eingegangen. - Ein Großteil der Patienten stammte aus dem endemischen Jodmangelgebiet. Das äußert sich im Radiojodtest durch eine erhöhte Jod-Avidität des Schilddrüsengewebes. - In diesem Gebiet gelten für Schilddrüsengesunde folgende Werte (LATTERMANN 1963):

Jodspeicherung der Drüse (in % der applizierten Dosis nach oraler J¹³¹-Gabe):

2 h	44,2 %	±	24,8
24 h	67,4 %	±	27,6
48 h	68,8 %	±	27,4

Die obere Normgrenze der 48 h-Plasmagesamtaktivität liegt bei 0,4 % der applizierten Dosis (pro l-Plasma)

Die Verkleinerung der Schilddrüse durch operative Resektion oder durch Radiojodtherapie ist meist von charakteristischen Veränderungen begleitet: Die Radiojod-Speicherung der Schilddrüse sinkt ab, oft wird auch eine erhöhte intrathyreoidale Umsatzgeschwindigkeit mit erhöhter 48 h-Plasmaaktivität beobachtet. Diese Testveränderungen werden als Ausdruck des verringerten Jodverteilungsraumes in der Drüse angesehen: Die Restschilddrüse kann weniger Jod aufnehmen, setzt dieses aber schneller um, was eine erhöhte spezifische Aktivität der im Plasma befindlichen Hormone zur Folge hat. - Für die Test-Beurteilung sind dann vor allem die Speicherungswerte ausschlaggebend. Die Plasmaaktivität kann wegen der veränderten spezifischen Aktivität nur bedingt mit herangezogen werden. - Für die manchmal bei klinisch euthyreoten Strumaträgern beobachteten Testveränderungen (erhöhter intrathyreoidaler Umsatz mit erhöhter 48 h-Plasmaaktivität) gibt es

heute noch keine Erklärung. Es ist denkbar, daß auch hier der Jodverteilungsraum verkleinert ist, durch Degeneration des unter dem erhöhten TSH-Spiegel hypertrophierten Schilddrüsengewebes.

Beurteilung der mit verschiedenen Hämatokritwerten bestimmten $*T_3$ -E.A. bei Patientenuntersuchungen

Mit den verschiedenen Hämatokritwerten bei Patientenuntersuchungen ändern sich gleichzeitig 4 Faktoren: die Menge der Erythrozyten, die Thyroxin-Bindungskapazität der extrazellulären Phase, die T_3 - J^{131} -Plasmakonzentration, außerdem methodische Faktoren. - Diese 4 sich überlagernden Komponenten ergaben die in Abb. 15 A wiedergegebenen Kurven.

Der Einfluß des zellulären Adsorbens ließ sich durch Umrechnung der Hämatokritwerte darstellen. In Abbildung 19 setzten wir die jeweils 1 ml Plasma zugehörige Erythrozytenmenge und die $*T_3$ -E.A. in Beziehung. Diese war bis zum Hämatokrit 50 proportional der Erythrozytenmenge, bei höheren Hämatokritwerten war die Proportionalität jedoch nicht mehr erfüllt. - Ursache dafür waren vor allem methodische Faktoren: Die Erythrozyten ließen sich bei höheren Hämatokritwerten durch Schütteln nicht mehr homogen im Plasma verteilen, wodurch die adsorbierende Oberfläche verkleinert war. Vielleicht wurde auch - da wir ungewaschene Erythrozyten verwendeten - durch die ihnen angelagerten Plasmaproteine, die Plasma-eiweißkonzentration erhöht. - Der Vergleich der Abbildungen 15 A und B zeigt, wie - trotz Überlagerung durch andere Faktoren - die $*T_3$ -E.A. die Reziprokwerte der Plasmaeibindungskapazität widerspiegelte. - Die T_3 - J^{131} -Konzentration stieg bei diesem Versuch durch eine Hämatokrit-

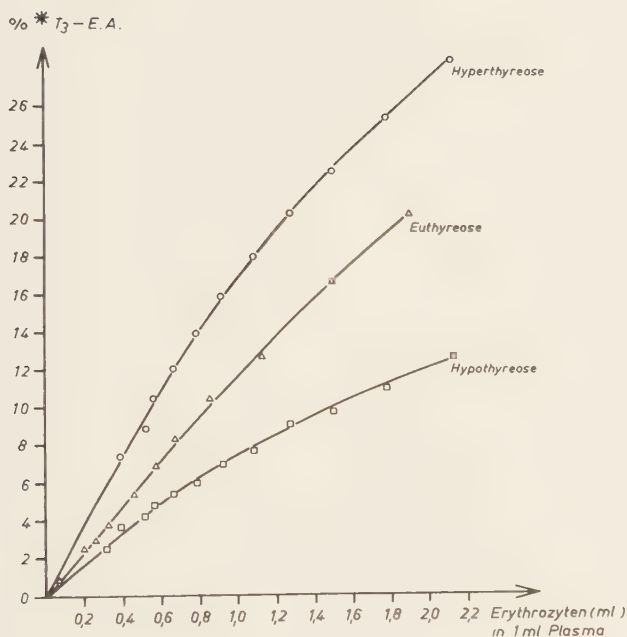
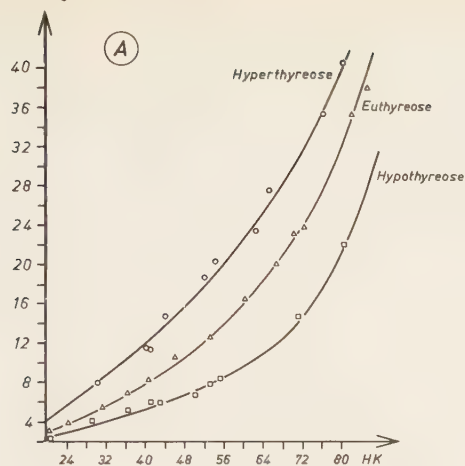


Abb.19 $*T_3 - E. A.$ in Abhängigkeit von der Erythrozytenmenge bei verschiedenen Schilddrüsens-funktionszuständen

% * T_3 -E.A.



% * T_3 -E.A. umgerechnet nach
Hamolsky

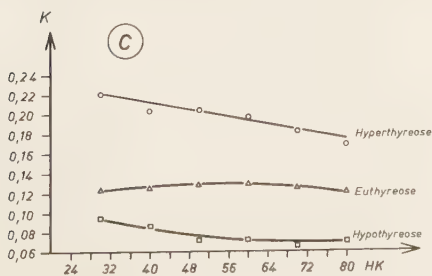
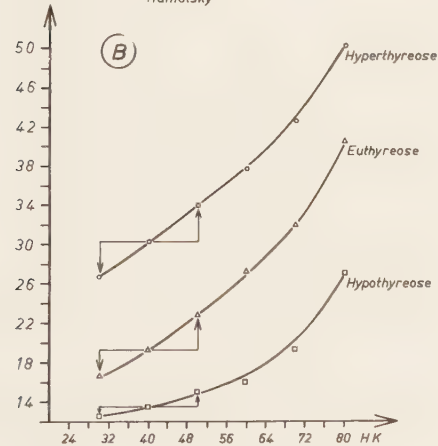


Abb.20 Umrechnung der bei verschiedenen Hämatokritwerten gemessenen % T_3 -E.A. (A) nach HAMOLSKY (B) und ADAMS (C)

erhöhung auf $H_k = 80$ bis $1 \mu g\% \text{ } ^*T_3$ an; ihr Einfluß war also gering.

Von einigen Autoren wurden Methoden zur Normierung der beim Hämatokrit des Patienten gemessenen *T_3 - E. A. vorgeschlagen:

H A M O L S K Y et al. (1957) rechneten die Meßwerte durch eine Proportionalitätsbeziehung, bei der nur die Erythrozytenmenge berücksichtigt wurde, auf einen gedachten Hämatokrit von 100 um. Auf diese Weise wurde einer der 4 Faktoren normiert. Da hierbei die Plasmabindungskapazität unberücksichtigt blieb, behielten die Kurven im wesentlichen ihren Verlauf bei (Abb. 20 B). Die Pfeile deuten den Fehler an, welcher bei der Umrechnung der Grenzwerte des physiologisch vorkommenden Hämatokritbereiches entstehen würde. Er war bei der Normalperson 2 - 3 mal größer als der maximale methodische Fehler.

Der Fehler konnte durch Einbeziehung beider Hauptkomponenten verringert werden, In Abbildung 19 wurde die Plasmamenge normiert und die Erythrozytenmenge zur *T_3 -E.A. in Beziehung gesetzt. Es ergaben sich bis zu Hämatokritwerten von 50 gültige Ursprungsgeraden, deren Steigung als Index zur Beurteilung verwendet werden könnte.

A D A M S et al. (1960) leiteten mit dem Massenwirkungsgesetz einen Bindungskoeffizienten der Erythrozyten für T_3 ab, in welchen der Hämatokritwert, die Plasmabindungskapazität und die T_3 - J^{131} -Plasmakonzentration einbezogen wurden. - Das Massenwirkungsgesetz gilt jedoch nur für einphasische, homogene Systeme. Wie aus Abbildung 20 C hervorgeht, wurde diese Umrechnung nur der für Schilddrüsengesunde vorliegenden Kurvenform gerecht. Die Umrechnung der Kurven von Schilddrüsenkranken ergab keine Parallelen zur Abszisse.

W O L D R I N G (1960) und F R I I S (1960) versuchten die Beeinflussung durch den Hämatokrit zu eliminieren, indem sie diesen auf einen konstanten Wert einstellten. Dazu wurden die Erythrozyten abzentrifugiert, gewaschen und pipetiert. Dieses Vorgehen kann aber die Erythrozytenoberfläche und deren Proteinadsorption verändern und so zu falschen Ergebnissen führen. Außerdem wäre die Durchführung des Tests durch die Hämatokriteinstellung schwieriger und zeitraubender.

Um eine Verfälschung des Ergebnisses durch die Hämatokritnormierung zu vermeiden, haben wir durch Untersuchung von je 5 euthyreoten männlichen und weiblichen Spendern h ä m a t o k r i t - a b h ä n g i g e N o r m a l b e r e i c h e festgelegt, mit denen wir die bei Patienten bestimmte $*T_3$ -E.A. bewerteten.

Ergebnisse der Patientenuntersuchungen

Bei Hyperthyreosen fanden wir höhere, bei Hypothyreosen niedrigere Aufnahmewerte als bei Normalpersonen. Eine Gruppe von 69 Patienten, die klinisch und im Radiojodtest sicher beurteilt werden konnten, hatte in 90 % der Fälle mit der Diagnose übereinstimmende Testwerte.

Euthyreosen: Frauen hatten im Mittel 12 % tiefer liegende $*T_3$ -Aufnahmewerte als Männer. Die maximale individuelle Schwankungsbreite lag - bei normiertem Hämatokrit um ± 9 % des Mittelwertes. Bei den untersuchten 40 euthyreoten Patienten war keine Testveränderung durch Jodmangel, Jodmangel-Struma oder durch vegetative Störungen festzustellen. - Eine Ausnahme machten 5 euthyreote Strumaträger mit beschleunigtem intrathyreoidalem Umsatz bzw. erhöhter 48 h-Plasmaaktivität, aber normalen Speicherungswerten. Die $*T_3$ -E.A. lag in 4 Fällen unter der Norm, im 5. Falle an der unteren

ren Normgrenze. - Bei einem größeren Patientenmaterial fanden HAMOLSKY et al. (1957) keine jahreszeitlichen Unterschiede; Patienten über 50 Jahren ließen eine geringe - statistisch nicht signifikante - Reduktion der $*T_3$ -E.A. erkennen. - Nach Angaben von ROBBINS (1959) soll die $*T_3$ -E.A. während der Menstruation um durchschnittlich 11,9 % erniedrigt sein.

Hyperthyreosen: Die Untersuchungsergebnisse von 10 hyperthyreoten Patienten zeigten eine gute Übereinstimmung der $*T_3$ -E.A. mit dem Krankheitsbild und den Veränderungen im Radiojodtest. Die prozentuale Steigerung der $*T_3$ -E.A. über die Norm kann als ein gewisser Gradmesser für die Erkrankung gewertet werden (Tab.14). Ob eine Therapie-Kontrolle durch die $*T_3$ -E.A. möglich ist, können wir wegen der geringen Zahl von Untersuchungen noch nicht beurteilen. - Nach unserer Vorstellung ist es kaum denkbar, daß die hohen Aufnahmewerte bei Hyperthyreosen allein durch den PBI-Spiegel bedingt sind. Wir nehmen auch auf Grund unserer elektrophoretischen Messungen (Abb.10) an, daß eine reduzierte Plasmabindungskapazität hinzukommt.

Hypothyreosen: Bei den 14 hypothyreoten Patienten, die wir untersuchten, war keine Beziehung zwischen dem Grad der Reduktion der Aufnahmewerte und dem Ausfall des Radiojodtests festzustellen (Tab.13). Es handelte sich - mit nur 2 Ausnahmen - um Patienten, die mit Tumordosen von Radiojod vorbehandelt waren. Das funktionstüchtige Schilddrüsengewebe war dadurch fast vollständig zerstört und eine Substitutionstherapie, die erst 14 Tage vor dem Test abgesetzt werden konnte, notwendig.

$*T_3$ -E.A. nach Verkleinerungstherapie der Schilddrüse: Zur Untersuchung kamen 22 Patienten nach Resektion einer Jodmangel-Struma und 2 Patienten nach Radiojod-Therapie einer hyperaktiven Struma.-

Die $*T_3$ -Aufnahmewerte lagen in 75 % der Fälle im hypothyreoten Bereich, obwohl der klinische Status und auch die Jodspeicherwerte im Radiojodtest keinen Anhalt für eine Unterfunktion gaben. - Dieser Befund steht im Gegensatz zu Berichten anderer Autoren, die nach Therapie von Jodmangelstrumen und Hyperthyreosen eine mit dem klinischen Bild übereinstimmende $*T_3$ -E.A. fanden (ROBBINS 1959; HAMOLSKY et al. 1959; FRIIS 1960a). Die Thyroxin-Bindungskapazität von TBG nach Schilddrüsenresektion wurde seither nicht untersucht. Wenn keine anderen - bisher nicht beschrieben - Faktoren eine Rolle spielen, so ließe sich die gesenkte $*T_3$ -E.A. bei diesen Patienten nur durch eine vermehrte TBG-Kapazität deuten. - Vielleicht kann der von uns gemessene TBG-Wert einer mit Tumordosen von Radiojod behandelten Patientin ein Hinweis dazu sein. Der Wert war mit 38 $\mu g\%$ T_4 weit größer als der eines klinisch ebenfalls schwer hypothyreoten unbehandelten Patienten (28,8 $\mu g\%$ T_4). - Bevor nicht genaue Befunde über die Hormonsekretion und den Hormontransport bei strumaresezierten Patienten vorliegen, kann hier das Test-Ergebnis nicht beurteilt werden. Bis dahin kann der Test auch nicht zur Therapiekontrolle eingesetzt werden.

$*T_3$ -E.A. als Ergänzung zum Radiojodtest

Da der Radiojodtest vorwiegend die Hormonproduktion in der Schilddrüse analysiert, die $*T_3$ -E.A. hingegen die T_4 -Bindungskapazität von TBG widerspiegelt, konnten wir an einigen Fällen zeigen, daß die durch den Radiojodtest gewonnene Vorstellung mit der Bestimmung der $*T_3$ -E.A. ergänzt wurde: Die Speicherungswerte einer Patientin (Tab.17, Nr.9) mit Strumitis bei Struma maligna lagen im unteren Normbereich; die 48 h-Plasmaaktivität war normal. Der Wert der $*T_3$ -E.A. war jedoch stark unter die Norm gesenkt. - Durch Bestimmung des PBI¹³¹ und durch chromatographische

Auftrennung des Butanolextrakts konnte eine Unterfunktion bestätigt werden. - Bei den Patienten mit Hypophysen-Unterfunktion (Tab.18) war der Radiojodtest in 2 Fällen normal und bei einem weiteren nur wenig (im Sinne einer gesteigerten Aktivität) verändert. Auch hier entsprach die gesenkte $*T_3$ -E.A. besser dem klinischen Bild. - Eine klinisch euthyreote Patientin mit essentieller Hyperlipämie hatte im Radiojodtest eine erhöhte Schilddrüsenfunktion, während die $*T_3$ -E.A. wenig unter dem Normbereich lag.

Extrathyreoidale Beeinflussung der $*T_3$ -E.A.

Der Spiegel des Thyreoida stimulierenden Hormons hat - im Gegensatz zum adrenokortikotropen Hormon - Einfluß auf die $*T_3$ -E.A. Wir konnten durch eine zweimalige Injektion von je 500 MSE-TSH die Erythrozytenaufnahme um etwa 29 % steigern (Tab.19). Auch lag die Aufnahme der 4 Patienten mit Hypophyseninsuffizienz oder nach Hypophys-ektomie unter der Norm (Tab.18). Wir können heute noch nicht beurteilen, welche Faktoren die Änderung bewirkten.

Ferner sind die Plasmalipide für $*T_3$ -E.A. bedeutungsvoll: Nach der in vitro Zugabe von 200 mg% Cholesterin ging die $*T_3$ -E.A. um 25 % zurück. Der träge ansteigende Kurvenverlauf (Abb.11) bei einer Patientin mit Hyperlipämie weist ebenfalls auf eine Hemmung der T_3 -Anlagerung hin. - Unsere Beobachtungen an 2 Patienten mit Hyperlipämie lassen vermuten, daß bei diesem Krankheitsbild auch die Hormondiffusion in die Zelle reduziert ist. Ein Patient bot trotz normalem Radiojodtest und stark gesenkter TBG-Kapazität (10,5 µg% T_4 elektrophoretisch bestimmt) das Bild einer schweren Hypothyreose. Eine zweite klinisch euthyreote Patientin zeigte im Radiojodtest eine gesteigerte Schilddrüsenaktivität. Die $*T_3$ -E.A. beider Patienten lag wenig unter der Normgrenze. - Diese Beobachtung deuten wir durch Annahme einer $*T_3$ -Adsorption an Plasmalipiden.

Unseren Befunden bei Graviden, Leberkranken und Nephrosepatienten ~~ge~~ Veränderungen der TBG-Kapazität zugrunde.

Im Blut von G r a v i d e n fanden wir eine etwa auf das 3-fache des Normalwertes erhöhte latente TBG-Bindungskapazität, erniedrigte $*T_3$ -Aufnahmewerte und eine Adsorptionsisotherme, die zwei Stufen aufwies. Die ersten beiden Befunde stehen mit denen anderer Autoren im Einklang: In der Schwangerschaft wurden ab dem 3. Monat erhöhte TBG- und PBI-Werte gefunden (DOWLING et al. 1956a; ROBBINS & NELSON 1958), die $*T_3$ -E.A. war dann reduziert (HAMOLSKY et al. 1957; ROBBINS 1959; URELES 1959; FRIIS 1960; WALFISH 1961; OSORIO 1961). Der dritte Befund läßt daran denken, daß während der Schwangerschaft ein anderes T_4 -Bindungsmuster im Plasma vorliegt als bei Normalpersonen.

Ursache für die verminderte $*T_3$ -Aufnahme, die wir bei L e b e r k r a n k e n fanden, ist wohl die von VANNOTTI (1959) beschriebene TBG-Vermehrung. Veränderungen des Gallensäurespiegels hatten keinen Einfluß auf die $*T_3$ -E.A. (Tab.22). - Während unsere Befunde mit denen von FRIIS (1960a) übereinstimmen, beschrieben HAMOLSKY et al. (1957) bei Hepatitiden erhöhte Aufnahmewerte.

Bei der N e p h r o s e ist der Eiweißverlust durch die Nieren die Ursache der TBG- und PBI-Reduktion (RECANT 1956; ROBBINS et al. 1957b). Wir fanden bei diesem Krankheitsbild eine erniedrigte latente TBG-Bindungskapazität und erhöhte $*T_3$ -E.A.-Werte. - Ähnliche Plasmaverhältnisse erzeugten wir in vitro durch Plasmaverdünnung; hierbei stieg die $*T_3$ -E.A. proportional zum Reziprokwert der reduzierten TBG-Kapazität an (Abb.12 B).

Die Bedeutung des Tests für die Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen

Wie wir eingangs darlegten, scheint das freie Thyroxin im Blut weitgehend für die klinische

Symptomatik verantwortlich zu sein. Es sind vor allem zwei Komponenten, die für den Spiegel des freien Thyroxins bestimmend sind: die Menge des endogenen Hormons, dessen proteingebundener Anteil als PBI gemessen wird, und die Kapazität der Thyroxin transportierenden Proteine. - Während das PBI durch Mikroanalyse bestimmt werden kann, war eine Messung der absoluten Thyroxin-transportkapazität von TBG seither nicht möglich. Die Nachteile der verwendeten elektrophoretischen Methoden wurden besprochen; sie liefern nur relative Werte. - Wir konnten nachweisen, daß die prozentuale $*T_3$ -E.A. dem Reziprokwert der TBG-Kapazität proportional ist. Durch diese Methode haben wir somit die Möglichkeit, auf einfache Weise im physiologischen Milieu ein Maß für die TBG-Kapazität zu gewinnen. Zusammen mit dem PBI-Wert könnte die Menge des freien T_4 abgeschätzt werden:

$$T_{4\text{frei}} = k \cdot \frac{\text{PBI}}{\text{TBG}} = k' \cdot \text{PBI} \cdot \% *T_3\text{-E.A.}$$

Beide Werte zeigten jedoch auch isoliert eine gute Übereinstimmung mit der durch andere Untersuchungen gesicherten Diagnose. Das bedeutet, daß sich bei Schilddrüsenerkrankungen T_4 - und TBG-Spiegel in der Regel diagonal entgegengesetzt verschoben haben. - Bei einer Parallelverschiebung (Schwangerschaft, Lebererkrankungen, Nephrose) würde auf Grund einer Bestimmung eine Fehldiagnose gestellt werden. - Die Verwendung der $*T_3$ -Aufnahme als "Screening"-Test ist schon wegen dieser weitgehend noch unbekannten Zusammenhänge nicht möglich. Es liegen noch andere Gründe vor, die gegen diese Anwendung sprechen: Geringfügige methodische Änderungen beeinflussen die $*T_3$ -E.A. empfindlich. Neben TBG können auch andere Proteinfraktionen zu Veränderungen der $*T_3$ -E.A. führen. Dies zeigten unsere Befunde an Patienten mit α_2 -Globulin-Vermehrung, mit Morbus

Waldenström und mit Plasmozytom. Ungeklärt blieb, ob nicht die Plasmaproteinadsorption der Erythrozyten individuellen Schwankungen unterworfen ist, was ebenfalls zu falschen Ergebnissen führen könnte. HAMOLSKY et al. (1957) berichten über zwei weitere Möglichkeiten, die zu veränderten Aufnahmewerten führen. Bei metastasierenden Karzinomen fanden diese Untersucher erhöhte und bei Oestrogentherapie erniedrigte Aufnahmewerte. Die Jod-Applikation dagegen und psychische Erregung beeinflussten die $^{*}T_3$ -E.A. nicht.

Wenn auch die $^{*}T_3$ -E.A. als einziger Index zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion nicht ausreicht, so würde sie doch in Verbindung mit der PBI-Bestimmung eine wesentlich bessere Diagnostik ohne Applikation von Radiojod ermöglichen als seither. Dies ist für die Klinik in zweierlei Hinsicht bedeutungsvoll: Auf diese Weise könnten auch Gravide und Kinder, bei denen der Radiojodtest nicht durchgeführt werden kann, mit einer befriedigenden Genauigkeit untersucht werden. Dies gilt auch für Patienten nach Jod-Prämedikation, wodurch noch Monate später der Radiojodtest verändert ist. Mit der vorgeschlagenen Testkombination könnte wahrscheinlich in vielen Fällen der aufwendige Radiojodtest umgangen werden, wodurch das klinische Routinelabor entlastet werden könnte. - Die Ergebnisse der beiden Untersuchungen würden, da sie Aussagen über den peripheren Schilddrüsenhormonhaushalt gestatten, den Radiojodtest wertvoll ergänzen, der in erster Linie die Dynamik der Hormonsynthese und der Hormonsekretion analysiert.

D. Z U S A M M E N F A S S U N G U N D

S C H L U S S F O L G E R U N G E N

In der vorliegenden Arbeit wurde die Aufnahme von radiojodmarkiertem Trijodthyronin durch Erythrozyten (*T₃-E.A.), das wir dem Blut in vitro zusetzten, untersucht.

Voraussetzung für eine zuverlässige Bestimmung der *T₃-E.A. war eine genaue Prüfung eines jeden Schrittes des Arbeitsganges, um so den Einfluß auf das Ergebnis zu konstatieren. Es zeigte sich, daß die *T₃-E.A. durch Heparinzusatz, Blutlagerung, Steigerung der Trijodthyronin-Plasmakonzentration und Erhöhung der Inkubationstemperatur bis 30°C anstieg, während sie durch Lagerung des mit Trijodthyronin bei 37°C inkubierten Blutes bei Temperaturen unter 32°C abfiel und bei höheren Lagerungstemperaturen weiter zunahm. Die besten Meßergebnisse wurden erzielt, wenn die Erythrozyten während der Inkubation durch Schütteln gleichmäßig im Plasma verteilt wurden. - Die auf diese Weise ausgearbeitete Methodik, bei der bedingte Veränderungen klein und konstant gehalten wurden und deren Fehlerbreite $2 \sigma_X = \pm 6,7 \%$ des Mittelwertes einer Dreifachbestimmung betrug, soll im folgenden kurz beschrieben werden:

Die Aufarbeitung der Blutproben erfolgte in besonderen Zentrifugengläsern. Einem ml Blut, der bis zu 30 I.E.Heparin enthielt, wurden bis zu $3 \mu\text{g}\%$ T₃ zugesetzt und die Impulsausbeute gemessen. Nach der 2-stündigen Inkubation bei 37°C wurden die Erythrozyten 5 mal mit je 10 ml isotonischer Kochsalzlösung gewaschen. Der Quotient aus der Impulsausbeute der gewaschenen Erythrozyten (mal 100 %) und der zuerst gemessenen ergab

den prozentualen Anteil der zugegebenen $*T_3$ -Menge, der den gewaschenen Erythrozyten anhaftete.

Bedingung für die Analyse des Mechanismus der Trijodthyroninaufnahme war die Messung der Thyroxin-Bindungskapazität des Thyroxin bindenden Globulins im Plasma (TBG). Sie wurde mittels einer besonderen Elektrophoresetechnik auf Zelluloseazetat-Folien bestimmt. Hypothyreote Patienten hatten gegenüber der Norm (22 $\mu g\%$ Thyroxin) erhöhte, hyperthyreote erniedrigte Bindungskapazitäten. - Die aufgezeigten Untersuchungen ergaben, daß bei der Elektrophorese die Hormonanlagerung im Plasma verändert wird, wodurch einzelne in der Literatur aufgeführte Befunde, die mit dieser Methodik erhoben wurden, fraglich erscheinen. - Bei stufenweiser Erhöhung der Thyroxin-Plasmakonzentration beobachteten wir, daß die $*T_3$ -E.A. nach Absättigung der TBG-Fraktion wesentlich schneller zunahm als vorher. Auf diese Weise konnte die latente Thyroxinkapazität unter annähernd physiologischen Verhältnissen bestimmt werden.

Für die Deutung des Mechanismus der $*T_3$ -E.A. waren folgende Befunde entscheidend:

1. Die $*T_3$ -Anlagerung an die Erythrozyten erwies sich als Adsorptionsvorgang, welcher der Adsorptionsgleichung von FREUNDLICH gehorchte.
2. Die $*T_3$ -E.A. war dem Reziprokwert der latenten Thyroxin-Bindungskapazität des Thyroxin bindenden Globulins im Plasma proportional:

$$*T_3\text{-E.A.} \sim \frac{1}{\text{Thyroxin-Bindungskap.von TBG}(\mu g\%) - \text{PBI}(\mu g\%)}$$

(PBI = Protein Bound Iodine)

3. Die endogenen Schilddrüsenhormone im Plasma (PBI) veränderten die $*T_3$ -E.A. praktisch nicht.

4. Der Einfluß der TBG-Bindungskapazität wurde durch die TBG-Adsorption an der Erythrozytenoberfläche verstärkt (bei einem Hämatokrit von 40 wurden etwa 20 % des im Plasma vorhandenen TBG angelagert).

Überträgt man die beiden zuletzt angeführten Beobachtungen auf 2., so ergibt sich die zur Deutung der Ergebnisse von Patientenuntersuchungen gültige Beziehung:

$$*T_3\text{-E.A.} \sim \frac{1}{\text{Thyroxin-Bindungskapazität von TBG}}$$

Die im Patientenblut gemessenen Werte der $*T_3\text{-E.A.}$ sind also Ausdruck der Bindungskapazität von TBG.

Zur Beurteilung der bei verschiedenem Hämatokrit gewonnenen Meßergebnisse bei Patientenuntersuchungen wurde ein hämatokritabhängiger Normalbereich festgelegt. - Die Werte euthyreoter Frauen lagen im Mittel 12 % tiefer als bei Männern. Die maximale individuelle Schwankungsbreite lag bei ± 9 % des Mittelwertes. - Bei Schilddrüsenerkrankten war die $*T_3\text{-E.A.}$ meist charakteristisch verändert: sie war bei hyperthyreoten Patienten gesteigert, bei hypothyreoten dagegen gesenkt. - Das Ergebnis der $*T_3\text{-E.A.}$ stimmte bei 69 untersuchten Patienten (45 Euthyreosen, 14 Hypothyreosen, 10 Hyperthyreosen) in 90 % der Fälle mit der klinischen und Radiojodtest-Diagnose überein. Jodmangel oder das Vorliegen einer Jodmangel-Struma beeinflussten in der Regel das Ergebnis nicht. Bei 4 von 5 klinisch euthyreoten Strumaträgern mit Veränderungen im Radiojodtest (= beschleunigtem intrathyreoidalem Umsatz bzw. erhöhter 48 h-Plasmagesamtaktivität) lagen die Aufnahmewerte jedoch unter der Norm. Die Strumaresektion hatte bei 18 der untersuchten 24 euthyreoten Patienten ein Absinken der Aufnahmewerte unter die Norm zur Folge.

Erniedrigte Aufnahmewerte bei Schilddrüsengesun-

den wurden außer bei 3 Graviden und einer Frau eine Woche nach der Geburt auch bei folgenden Krankheitsbildern und Zuständen gefunden: Hepatitis (6 Fälle), Leberzirrhose (1), Hypophyseninsuffizienz (4), α_2 -Globulinvermehrung (1). - Die Ursache des Abfalls der Trijodthyronin-Aufnahme während der Schwangerschaft war die über die Norm erhöhte TBG-Bindungskapazität. Anders als bei Normalpersonen verlief auch die Hormon-Adsorptionsisotherme der Erythrozyten. Aus diesem Grund wird im Plasma von Schwangeren ein anderes Thyroxin-Bindungsmuster vermutet.

Im Gegensatz dazu war bei Schilddrüsengesunden mit Nephrose (2), Plasmozytom (2), Morbus Waldenström (1) und nach Injektion von thyreotropem Hormon die Trijodthyronin-Aufnahme erhöht. Der Anstieg bei der Nephrose war durch die erniedrigte TBG-Kapazität bedingt.

Bei 2 Patienten mit Hyperlipämie war ebenfalls die Erythrozyten-Aufnahme leicht erniedrigt. Der eine Patient bot das Bild einer schweren Hypothyreose bei - im Radiojodtest - normaler Schilddrüsenfunktion. Die TBG-Bindungskapazität war auf etwa die Hälfte der Norm erniedrigt. - Der andere Patient war klinisch euthyreot, wies aber eine gesteigerte Schilddrüsenfunktion auf. Es wurde versucht, diese Befunde mit einer reduzierten Hormondiffusion in die Zelle durch Adsorption an den Plasmalipiden zu erklären. Diese Annahme konnte durch zwei weitere Versuche gestützt werden: Eine Steigerung der Plasmacholesterin-Konzentration in vitro hatte das Absinken der Aufnahmewerte zur Folge. Nach Zugabe von Thyroxin zum Blut eines Patienten mit Hyperlipämie stieg die Trijodthyroninaufnahme der Erythrozyten wesentlich träger an als bei anderen Patienten.

Die durchgeführten Untersuchungen lassen eine Beurteilung der Bedeutung der Trijodthyronin-Erythrozyten-Aufnahme als Schilddrüsenfunktionsstest zu:

Die angegebene Methodik würde sich, was den Zeitaufwand, die Schwierigkeit der Durchführung und die Fehlerbreite betrifft, gut für das klinische Routinelabor eignen.

Durch die Erythrozyten-Aufnahme von Radiotrijodthyronin kann im physiologischen Milieu auf einfache Weise ein Maß für die Thyroxin-Bindungskapazität des Thyroxin transportierenden Proteins gewonnen werden, was seither mit anderen Methoden nicht möglich war. Dieser Meßwert erlaubt - zusammen mit der Bestimmung des proteingebundenen Jods - Aussagen über den physiologisch wichtigen, freien Hormonanteil im Blut. Auf diesem Wege wird das mit den seither zur Verfügung stehenden Methoden gewonnene Bild vom Schilddrüsenhormonhaushalt wesentlich ergänzt. Dies wurde an verschiedenen Beispielen gezeigt. - Die Kombination der beiden Tests würde eine für viele Fälle ausreichend sichere Diagnostik ohne Applikation von Radiojod möglich machen. Wahrscheinlich könnte so die Anwendung des aufwendigen Radiojodtestes eingeschränkt werden. Außerdem könnten solche Patienten besser beurteilt werden, bei denen der Radiojodtest nicht durchgeführt werden darf oder nicht beurteilt werden kann, wie zum Beispiel Kinder, Schwangere und Patienten nach Jod-Prämedikation.

E. T A B E L L E N A N H A N G

I. Tabellen zu im Text erwähnten Meßwerten

1. Bestimmung der methodischen Fehlerbreite

Nr.	% *T _z -E.A. der Proben			Mittel- wert M ₁	max.Abweichung von M ₁ = X	X - M ₁
	I	II	III			
1	6,7	5,95	6,4	6,3	0,1 = 1,57 %	+ 1,1 %
2	7,0	6,3	6,9	6,7	0,3 = 4,47 %	- 1,1 %
3	7,8	7,4	7,9	7,7	0,1 = 1,30 %	- 1,2 %
4	5,7	6,3	6,25	6,5	0,8 = 12,3 %	+ 1,2 %
5	7,3	7,0	7,3	7,2	0,05 = 0,69 %	- 1,9 %
6	6,7	6,0	6,7	6,48	0,22 = 3,41 %	- 2,59 %
7	7,7	7,8	8,0	7,8	0,2 = 2,56 %	- 1,2 %
8	7,9	8,1	8,2	8,0	0,2 = 2,50 %	- 1,2 %
9	6,45	6,3	6,7	6,4	0,15 = 2,34 %	- 2,2 %
10	7,0	7,1	7,1	7,0	0,07 = 0,99 %	- 2,89 %
11	7,6	7,7	7,7	7,42	0,18 = 2,59 %	- 2,29 %
12	4,7	4,7	4,75	4,7	0,45 = 9,0 %	+ 5,12 %
13	8,7	8,7	8,8	8,7	0,5 = 5,77 %	+ 1,2 %
14	5,75	5,55	6,1	5,8	0,2 = 3,45 %	- 1,2 %
15	5,7	5,0	6,05	5,55	0,2 = 3,6 %	- 0,45 %
16	6,0	6,5	6,2	6,25	0,55 = 8,8 %	+ 5,37 %
17	7,0	7,1	7,5	7,2	0,25 = 3,47 %	- 1,32 %
18	6,5	6,7	6,7	6,6	0,2 = 3,03 %	- 2,36 %
19	7,2	8,0	7,9	7,7	0,21 = 2,72 %	- 2,49 %
20	8,0	7,4	6,95	7,45	0,55 = 7,4 %	- 1,5 %
$X = \sqrt{\frac{1}{9}} \% = \pm 1,34 \%$					$\sum X = 77,62 \%$	$\sum (X - M_2)^2$
					$\frac{\sum X}{20} = M_2 = 3,88 \%$	$= 2,2 \%$

2. Untersuchung der Abwaschbarkeit von an gewaschenen, in Kochsalzlösung suspendierten Erythrozyten angelagertem Trijodthyronin nach 2 Stunden Inkubation bei 37°C

Anzahl der Waschungen	1	2	3	4	5
angelagertes $*T_3$ in % der zugegebenen Menge	88	83,5	78,3	75	70,2

3. Festlegung der Normalbereiche

a) für Männer

Hk	30	34	37	40	43	46	49	52	
*T ₃ -E.A. der Spender	Nr.1	3,9	4,75	5,4	6,25	7,3	8,4	9,55	10,8
	Nr.2	4,0	4,85	5,55	6,45	7,5	8,65	9,8	11,05
	Nr.3	4,3	5,1	5,85	7,2	7,8	8,9	10,15	11,4
	Nr.4	4,5	5,45	6,25	7,35	8,25	9,45	10,7	12,95
	Nr.5	4,9	5,7	6,5	6,7	8,35	9,5	10,9	12,25
M	4,3	5,17	5,91	6,79	7,84	8,98	10,22	11,69	
$\sigma = \pm$	0,39	0,37	0,46	0,47	0,45	0,49	0,58	0,89	

b) für Frauen

Hk	30	33	36	38	40	43	46	49	
*T ₃ -E.A. der Spender	Nr.1	3,5	4,1	4,75	5,2	5,7	6,5	7,4	8,4
	Nr.2	3,5	4,1	4,75	5,2	5,7	6,5	7,4	8,9
	Nr.3	3,75	4,25	4,9	5,4	5,95	6,85	7,85	8,4
	Nr.4	3,8	4,35	5,05	5,55	6,15	7,1	8,2	9,4
	Nr.5	3,9	4,5	5,2	5,7	6,35	7,3	8,5	9,7
M	3,69	4,26	4,93	5,14	5,97	6,85	7,87	8,96	
$\sigma = \pm$	0,18	0,17	0,20	0,22	0,28	0,36	0,43	0,56	

II. Tabellen der in den Kurven eingezeichneten Meßwerte

Zu Abb.2 Anstieg der $*T_3$ -E.A. nach Zugabe von Heparin

Heparin (I.E.) pro ml Blut (Hk = 45)	0	50	100	250	500	1000	2000	3000	4000
% $*T_3$ -E.A.	9	9,2	9,3	10	10,4	10,8	12,7	13,1	13,5

Zu Abb.4 Verhalten der $*T_3$ -E.A. bei verschiedenen Inkubationstemperaturen
Inkubationszeit: 2 h; Hk = 45

Inkubationstemperatur (°C)	0,5	9	16	21	25	32	37
% $*T_3$ -E.A.	3,5	4,2	4,9	6,3	8,7	8,8	9,1

Zu Abb.5 Verhalten des nach der Inkubation an
und 6 die Erythrozyten angelagerten $*T_3$ bei
verschiedenen Lagerungs-Zeiten und
-Temperaturen (In der Tabelle wird die
beiden Komponenten zugehörige % $*T_3$ -
E.A. angegeben)

		Lagerungstemperatur (°C)					
		0	9	16	25	32	37
Lagerungszeit (Std.)	0,5		7,9		8,7		
	1	9,1	7,7	8,0		8,8	
	2				7,8		10,0
	5	7,8	7,0	7,1	7,2	9,4	
	10	7,4	6,3	6,5	6,9	9,0	11,7

Die unmittelbar nach der Inkubation gemessene
 $*T_3$ -E.A. betrug 9,1 %

Elektrophoretisch bestimmte T₄-Anlagerung an die Inter- α -Fraktion bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen

Thyroxin an TBG angelagert ($\mu\text{g}\%$)					
	Euthyreose	Struma maligna nach Therapie	Hypothyreose	Hypothyreose verbunden mit Hyperlipämie	Hyperthyreose
5	1,6		2,2		1,4
10	2,3		2,9	2,6	1,9
15	3,6		5,3		
20	3,3	6,5	5,6	3,9	4,6
25	6,0		5,8		4,8
30	8,4		7	4,3	3,2
38,6	5,3		8,8		4,2
50	7,7		12,5	6,1	7,0
60	10,6		13,4		6,3
70		16,4		10,2	
110	18,7		20,7		8,1
160	21,6		25,4		7,5
170				11,0	6,0
210	21,5		28,6		8,1
220		37,7		11,8	
245				10,4	6,0

exogenes Thyroxin im Plasma ($\mu\text{g}\%$)

Zu Abb. 11 Verhalten der *T₃-E.A. nach Zugabe von stabilem Thyroxin zum Blut

Trijodthyronin-Erythrozyten-Aufnahme						
	Euthyreose	Hypo- thyreose	Gravidität	Hyper- chole- sterinämie	Hyper- thyreose	Nephrose
2	7,35	5,3	3,6	6,0	8,1	11,8
5	7,4	5,6	3,9	6,1	8,85	11,5
6,4	7,5					
7,7		5,8	3,6			13,2
8,6	7,5					
10	7,9	5,7		6,25	9,3	13,4
14,3		6,15				
20	9,5	8,35	4,0	6,3		15,1
50	11,5	10,0	7,2	8,1	12,6	16,1
77		10,5	8,5	8,0		17,5
100	12,6	10,6	8,9	8,2	15,5	17,5
500	14,5				16,0	
1000		11,4	12,8	10,4		21,0
5000			13,6	9,9		

exogenes Thyroxin im Plasma ($\mu\text{g}\%$)

Zu Abb.13 Verhalten der *T_3 -E.A. nach Erhöhung der T_4 - bzw. T_3 -Plasmakonzentration

Zugesetzte Menge ($\mu g\%$)	% *T_3 -E.A. bei Zugabe von	
	Thyroxin	Trijodthyronin
2	8,4	
5	8,5	8,3
6,7	8,6	
10	9,1	8,6
20	10,9	9,6
50	13,2	11,4
100	14,5	12,0
200	16,7	14,5
500		16,0
1000		17,8
2000		18

Zu Abb.15 Abhängigkeit der $*T_3$ -E.A. vom Hämato-
krit bei verschiedenen Schilddrüsen-
funktionszuständen

Hypothyreose	
Hk	$*T_3$ - E.A.
25	4,2
30	3,9
36,5	5,1
41	6,0
43,5	5,8
50	6,7
53	7,9
55,5	8,4
71,5	14,7
80,5	22,2

Euthyreose	
Hk	$*T_3$ - E.A.
6,5	0,84
16,5	2,5
20,5	3,0
24,2	3,8
31,6	5,4
36,5	6,9
40,7	8,4
46	10,5
53	12,7
60	16,6
66,5	20,0
70,5	24,3
72,3	24
82	35,6
85	38
97	65

Hyperthyreose	
Hk	$*T_3$ - E.A.
30	8
40	11,5
40,5	11,5
44	14,7
52	18,8
54	20,4
62	23,5
65	27,7
76	35,6
80	40,9
81	48

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ADAMS, R.,
SPECHT, N. &
WOODWARD, J. Labeling of erythrocytes in vitro with radioiodine-
tagged l-triiodothyronine as an index of thyroid
function: An improved hematocrit correction
J.Clin.Endocr. 20, 1366 (1960)
- BERSON, S.A. &
YALON, R.S. Quantitative aspects of iodine metabolism. The ex-
changeable organic iodine pool, and the rates of
thyroidal secretion, peripheral degradation and
fecal excretion of endogenously synthesized orga-
nically bound iodine
J.Clin.Invest. 33 (1954)
- BROWN-GRANT, K. The Hypothalamus and the thyroid gland.
Brit.med.Bull.: The thyroid gland,
16, 165 (1960)
- CRISPELL, K.R.,
KAHANA, S. &
HYER, H. The effect of plasma on the in vitro uptake or
binding by human redcells of radioactive I¹³¹
labelled l-thyroxine and l-triiodothyronine
J.Clin.Invest. 35, 121 (1956a)
- CRISPELL, K.R. &
COLEMAN, J. A study of the relative binding capacity of plasma
proteins, intact human cells, and human red cell
stroma for radioactive I¹³¹ labelled l-thyroxine
J.Clin.Invest. 35, 475 (1956b)
- CRISPELL, K.R.,
COLEMAN, J. &
HYER, H. Factors affecting the binding capacity of human
erythrocytes for I¹³¹-labelled l-thyroxine and
l-triiodothyronine
J.Clin.Endocr. 17, 1305 (1957)
- CRISTENSEN, L.K. Free non-proteinbound serum thyroxine
Acta med.Scand. 166, 133 (1960)
- DEISS, W.P.,
ALBRIGHT, E.C. &
LARSON, F.C. Comparison of the in vitro serum protein binding
of thyroxine and triiodothyronine
Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 84, 513 (1953)
- DOCUMENTA GEIGY Wissenschaftliche Tabellen, 6.Aufl., 277 (1960)
Herausgeber: J.R.Geigy A.G., Basel,
Pharmazeutische Abteilung
- DOWLING, J.T.,
FREINKEL, N. &
INGBAR, S.H. Thyroxine-binding by sera of pregnant women
J.Clin.Endocr. 16, 280 (1956a)
- DOWLING, J.T.,
FREINKEL, N. &
INGBAR, S.H. Effect of diethylstilbestrol on the binding of
thyroxine in serum
J.Clin.Endocr. 16, 1491 (1956b)
- FINK, G. Experimentelle Untersuchungen zur Aufnahme von J¹³¹-
markiertem 3,5,3'-L-Triiodthyronin durch Erythro-
zyten in vitro
Diss. Freiburg i.Br. (1962)

- FREINKEL, N.,
DOWLING, J.T. &
INGBAR, S.H. The interaction of thyroxine with plasma proteins:
localization of thyroxine-binding protein in Cohn
fractions of plasma
J.Clin.Invest. 34, 1698 (1955)
- FREINKEL, N.,
INGBAR, S.H. &
DOWLING, J.T. The influence of extracellular thyroxine-binding
protein upon accumulation of thyroxine by tissue
slices
J.Clin.Invest. 36, 25 (1957)
- FREUNDLICH, H. Kapillarchemie
Akad.Verlagsges. Leipzig, Band I, 156 (1930)
- FRIIS, T. In vitro uptake of I^{131} labelled l-triiodothyronine
by human erythrocytes
Acta endocr. 32, 117 (1960a)
- FRIIS, T. Comparative studies on the in vitro uptake of
labelled l-thyroxine and l-triiodothyronine by
human erythrocytes in hyperthyroidism and hypo-
thyroidism
Dan.med.Bull. 7, 89 (1960b)
- GOMORI, G. in: Histochemical demonstration of sites of cholins
esterase activity
Proc.Soc.exp.Biol. 68, 354 (1948)
- GOOLDEN, A.W.G.,
GARTSIDE, J.M.,
JACKSON, D.J. &
OSORIO, C. Uptake of I^{131} triiodothyronine by red cells.
A diagnostic test of thyroid function
Lancet 218 (1960)
- GORDON, A.H.,
GROSS, J.,
O'CONNOR, D. &
PITT-RIVERS, R. Nature of the circulating thyroid hormone plasma
protein complex
Nature, Lond. 169, 19 (1952)
- GRASSMANN, W.,
HANNIG, K. &
KNEDEL, M. Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestim-
mung der Serumproteine auf Filterpapier
Dtsch.med.Wschr. 76, 333 (1951)
- GROSS, J. &
PITT-RIVERS, R. The identification of 3:5:3'-L-triiodothyronine in
human plasma
Lancet 439 (1952/Ia)
- GROSS, J. &
PITT-RIVERS, R. Physiological activity of 3,5,3'-L-triiodothyronine
Lancet 593 (1952/Ib)
- HAMOLSKY, M.W.,
STEIN, M. &
FREEDBERG, A.St. The thyroid hormone-plasma protein complex in man.
II. A new in vitro method for study of "uptake" of
labelled hormonal components by human erythrocytes
J.Clin.Endocr. 17, 33 (1957)
- HAMOLSKY, M.W.,
GOLODETZ, A. &
FREEDBERG, A.S. The plasma protein-thyroid hormone complex in man.
III. Further studies on the use of the in vitro red
blood cell uptake of I^{131} -l-triiodothyronine as a
diagnostic test of thyroid function
J.Clin.Endocr. 19, 103 (1959)
- HAMOLSKY, M.W.,
FISCHER, D.B. &
FREEDBERG, A.S. Further studies on the plasma protein-thyroid hor-
mone complex
Endocrinology 66, 780 (1960)

- HAMOLSKY, M.W.,
STEIN, M.,
FISCHER, D.B. &
FREEDBERG, A.S. Further studies of factors affecting the plasma
protein-thyroid hormone complex
Endocrinology 68, 662 (1961)
- HEINEMANN, M.,
JOHNSON, C.E. &
MAN, E.B. The serum precipitable iodine in pregnancy
J.Clin.Invest. 27, 91 (1948)
- HORST, W. &
RÖSLER, H. Der Transport des Hormonjods im menschlichen Serum
untersucht mit Papierelektrophorese und Radiojod
Klin.Wschr. 31, 13 (1953)
- INGBAR, S.H. Pre-albumin a new thyroxine-binding protein of
human plasma. Its isolation and physiologic acti-
vity in normal and abnormal
J.Clin.Invest. 37, 903 (1958)
- INGBAR, S.H. in: Modern Concepts of Thyroid Physiology. The
interactions of the thyroid hormones with the pro-
teins of human plasma
Annals of the New York Academy of Sciences,
Volume 86, Art.2, 440 (1960a)
- INGBAR, S.H. &
FREINKEL, N. Regulation of peripheral metabolism of the thyroid
hormones
Recent Progr. in Hormone Res. 16, 353 (1960b)
- KALLEE, E. Binding ability of cytoplasmatic proteins.
II. Distribution equilibria of thyroid hormones,
soluble proteins and liver mitochondria
Protides of the biological fluids (Proceedings
of the 7th Colloquium, Bruges 1959)
- KEIDERLING, W. &
EMRICH, D. Die papierchromatographische Auftrennung der J¹³¹-
Plasmaaktivität als differentialdiagnostisches
Hilfsmittel bei Hyperthyreosen
Dtsch.med.Wschr. 85, 747 (1960)
- KLEIN, E. Der endogene Jodhaushalt des Menschen und seine
Störungen
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1960)
- KLEINE, N. Über den Verlauf der Adsorptionsisotherme und De-
sorption von Plasmaeiweiß bei gelagerten Erythro-
zyten
Ber.9.Tagg.dtsch.Ges.Bluttransf., Braunschweig
1960, Bibl.haemat. 12, 105 (1961)
- KLEMPERER, H.G. The uptake of thyroxine and triiodothyronine by
rat-liver mitochondria
Biochem.J. 60, 128 (1955)
- KYDD, D.M. &
MAN, E.B. Precipitable iodine of serum in disorders of the
liver
J.Clin.Invest. 30, 874 (1951)
- LARSON, F.,
DEISS, W.P. &
ALBRIGHT, E.C. Localization of protein-bound radioactive iodine by
filter paper electrophoresis
Science 115, 626 (1952)
- LATTERMANN, D. Diss. Freiburg i.Br. (1963) (in Vorbereitung)

- MAN, E.B.,
HEINEMANN, M.,
JOHNSON, C.E.,
LEARY, D.C. &
PETERS, J.P.
The precipitable iodine of serum in normal pregnancy and its relation to abortions
J.Clin.Invest. 30, 137 (1951)
- MEADE, R.G.
Possible errors in the determination of red blood cell uptake of I^{131} triiodothyronine
J.Clin.Endocr. 20, 480 (1960)
- NEWCOMER, W.S.
Relative potencies of thyroxine and triiodothyronine based on various criteria in thiouracil-treated chickens
Amer.J.Physiol. 190, 413 (1957)
- OSORIO, C.,
JACKSON, D.J.,
GARTSIDE, J.M. &
GOOLDEN, A.W.G.
The uptake of I^{131} triiodothyronine by red cells in relation to the binding of thyroid hormones by plasma proteins
Clin.Sci. 21, Nr.3, 355 (1961)
- PITT-RIVERS, R.
The thyroid hormones in blood
Ciba foundation colloquia on endocrinology
11, 82 (1957)
- PITT-RIVERS, R. &
TATA, J.R.
The thyroid hormones
Pergamon Press, London (1959)
- RECANT, L. &
RIGGS, D.S.
Thyroid function in nephrosis
J.Clin.Invest. 31, 789 (1952)
- RECANT, L.
An abnormality in thyroxine-binding in nephrosis (abstract)
J.Clin.Invest. 35, 730 (1956)
- RICH, C. &
BEARN, A.G.
Localization of the thyroxine-binding protein of serum by starch gel electrophoresis
Endocrinology 62, 687 (1958)
- ROBBINS, J. &
RALL, J.E.
Effects of triiodothyronine and other thyroxine analogues on thyroxine-binding in human serum
J.Clin.Invest. 34, 1331 (1955)
- ROBBINS, J.
Reverse-flow zone electrophoresis. A method for determining the thyroxine-binding capacity of serum protein
Arch.Biochem.Biophys. 63, 461 (1956)
- ROBBINS, J. &
RALL, J.E.
The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids.
Recent Progr.Hormone Res. 13, 161 (1957)
- ROBBINS, J.,
RALL, J.E. &
PETERMANN, M.L.
Thyroxine-binding by serum and urine proteins in nephrosis. Qualitative aspects
J.Clin.Invest. 36, 1333 (1957)
- ROBBINS, J. &
NELSON, J.H.
Thyroxine-binding by serum protein in pregnancy and in the newborn
J.Clin.Invest. 37, 153 (1958)
- ROBBINS, L.R.
Experience with the in vitro erythrocyte uptake of I^{131} -labeled l-triiodothyronine in a routine clinical laboratory
J.Clin.Endocr. 14, 1292 (1959)

- DE ROBERTIS, E. Anat.Rec. 80, 219 (1941)
- SCHMID, K. Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXIX. Separation from human plasma of polysaccharides, preptides and proteins of low molecular weight. Crystallisation of an acid glycoprotein J.Amer.Chem.Soc. 75, 60 (1953)
- SCHULTZE, H.E.,
GÖLLER, I.,
HEIDE, K.,
SCHÖNENBERGER, M. &
SCHWICK, G. Zur Kenntnis der α -Globuline des menschlichen Normalserums Z.Naturf. 10b, 463 (1955)
- STERLING, K.,
LASHOF, J.C. &
MAN, E.B. Disappearance from serum of I^{131} -labelled L-thyroxine and L-triiodothyronine in euthyroid subjects J.Clin.Invest. 33, 1031 (1954)
- STERLING, K. &
CHODOS, R.B. Radiothyroxine turnover studies in myxoedema, thyrotoxicosis and hypermetabolism without endocrine disease J.Clin.Invest. 35, 806 (1956)
- TATA, J.R. &
SHELLABARGER, C.J. An explanation for the difference between the responses of mammals and birds to thyroxine and triiodothyronine Biochem.J. 72, 608 (1959)
- TATA, J.R. Prealbumin as a complex in the α -globulin fraction in human serum Nature, Lond. 183, 877 (1959)
- TREVORROW, V. Studies on the nature of the iodine in blood J.Biol.Chem. 127, 737 (1939)
- URELES, A.L. &
MURRAY, M. The erythrocyte uptake of I^{131} -labeled L-triiodothyronine as a measure of thyroid function J.Lab. & Clin.Med. 54, 178 (1959)
- VANNOTTI, A. &
BERAUD, T. Functional relationships between the liver, the thyroxine-binding protein of serum and the thyroid J.Clin.Endocr. 19, 466 (1959)
- WALFISH, P.G.,
BRITTON, A.,
VOLPÉ, R. &
EZBIN, C. Experience with an in vitro test of thyroid function. - The red blood cell uptake of L-triiodothyronine labelled with radioactive iodine Canad.M.A.J. 84, 637 (1961)
- WALFISH, P.G.,
BRITTON, A.,
VOLPÉ, R. &
EZBIN, C. Quantitative plasma binding capacity studies of thyroxine-binding globulin by use of a modification of the erythrocyte L-triiodothyronine- I^{131} uptake test J.Clin.Endocr. 22, 178 (1962)
- WOLDRING, M.G.,
BAKKER, A. &
DOORENBAS, H. In vitro uptake of radioactive I^{131} labelled L-triiodothyronine by human erythrocytes as an index of thyroid function Acta endocr. 34, 305 (1960)

Herrn Professor Dr.W.KEIDERLING danke
ich für die Überlassung des Themas und
Herrn Dr.D.EMRICH, Herrn Oberarzt, Dozent
Dr.G.HOFFMANN, Herrn Dr.N.KLEINE für
die Beratung bei der Diskussion der
Ergebnisse.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Dr.med. Walter Meuret, Chefarzt der inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Tuttlingen, und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Hellfritzsch, wurde ich am 10. Februar 1937 als erstes von vier Geschwistern in Tuttlingen geboren.

Vom Herbst 1943 bis Herbst 1948 besuchte ich die Grundschule in Tuttlingen und trat dann in das Gymnasium Tuttlingen ein, wo ich am 23. März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Nach einem halbjährigen Praktikum in der Metallindustrie studierte ich Hochfrequenztechnik im Wintersemester 1957/58 an der Technischen Hochschule in Aachen.

Im Sommersemester 1958 begann ich das Medizinstudium, nachdem ich den 8 wöchigen Krankenpflegedienst am Kreiskrankenhaus Tuttlingen abgeleistet hatte.

Mit Ausnahme des Wintersemesters 1959/60 in Tübingen, studierte ich an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg i.Br. Nach dem 2.Semester bestand ich das Vorphysikum, nach dem 5.Semester das Physikum.

Im Juni 1961 nahm ich die Versuche zu meiner Doktorarbeit an der Isotopenabteilung der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg auf, die ich im März 1962 abschloß.

